

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Departamento de Ingeniería Química



TESIS DOCTORAL

Estudio de la influencia de las materias primas en la producción y propiedades de biodiesel como combustible

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Marta Serrano Martínez

Directoras

José Aracil Mira

Mercedes Martínez Rodríguez

Madrid, 2016

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
Departamento de Ingeniería Química



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

**Estudio de la influencia de las materias primas en la
producción y propiedades de biodiesel como
combustible**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA
PRESENTADA POR

Marta Serrano Martínez

Directores

José Aracil Mira
Mercedes Martínez Rodríguez

Madrid, 2015

FACULTY OF CHEMISTRY
Chemical Engineering Department



COMPLUTENSE
UNIVERSITY OF MADRID

**Study of the influence of raw materials in the
production and properties of biodiesel as fuel**

A thesis submitted for the degree of
Doctor of Philosophy

Marta Serrano Martínez

Directors

José Aracil Mira
Mercedes Martínez Rodríguez

Madrid, 2015

Mercedes Martínez Rodríguez

Tesis doctoral como compendio de publicaciones

La presente tesis doctoral, autorizada por los Directores de Tesis y la Comisión de Doctorado, se presenta como un compendio de cuatro trabajos previamente publicados. Las referencias completas de los artículos que constituyen el cuerpo de la tesis son las siguientes:

1°.- **Serrano M.**, Bouaid A., Martínez M., Aracil J. (2013). “Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: Influence of commercial additives and purification step” Fuel 113: 50-58.

2°.- **Serrano M.**, Martínez M., Aracil J. (2013). “Long term storage stability of biodiesel: Influence of feedstock, commercial additives and purification step” Fuel Proc Technol 16: 135-141.

3°.- **Serrano M.**, Oliveros R., Sánchez M., Moraschini A., Martínez M., Aracil J. (2014). “Influence of blending vegetable oil methyl esters on biodiesel fuel properties: Oxidative stability and cold flow properties” Energy 65: 109-115.

4°.- **Serrano M.**, Marchetti J.M., Martínez M., Aracil J. (2015). “Biodiesel production from waste salmon oil: kinetic modeling, properties of methyl esters, and economic feasibility of a low capacity plant” Biofuels, Biopr. Biorefin 9: 516-528.

Agradecimientos

Resulta tremendamente complicado concentrar en unas pocas líneas los agradecimientos de algo que ha ocupado tantos años. Me vais a perdonar que no mencione ni un solo nombre. Sois tantas las personas que tengo alrededor que temo olvidarme de alguna.

Gracias a mis directores, por la oportunidad de realizar la tesis en su grupo de investigación, por las directrices y las enseñanzas transmitidas a lo largo de este proceso. Gracias a mi supervisor en Noruega, por la excelente acogida, sus consejos laborales y sus charlas.

Gracias a todas las personas con las que compartí mi infancia y las que aparecieron más tarde. Gracias por haber crecido a mi lado y haberlo hecho sin cambiar.

A mis compañeras de la universidad. Gracias por los mil momentos pasados, y sin duda por los que quedan por pasar.

A mi grupo de investigación. Gracias por hacer esta etapa tan fácil, tan enriquecedora y tan satisfactoria sin importar el resultado.

Merci aux Marseillais, pour entrer dans ma vie et ne jamais sortir.

Gracias a mis jardineras, a mis bahianas, por querer cambiar las cosas, empezando por ellas mismas.

Thanks to my non-norwegian community in Oslo. I can sum up by saying: Takk for sist!

A mis compañeras de hogar, por crear uno tan acogedor del que cuesta mucho salir.

A ti, que no hace falta nombrar porque sabemos que esta tesis es tanto tuya como mía.

A toda mi familia, en especial a mis padres. No se me ocurre nada más bonito que teneros a mi lado en esto tan confuso que llaman vida.

...y en la calle, codo con codo, somos mucho más que dos.

Mario Benedetti

RESUMEN

La búsqueda de nuevas fuentes de energía que impliquen menores emisiones de gases de efecto invernadero y eviten la dependencia energética exterior está siendo objeto de numerosos estudios. Por este motivo, el consumo de biocombustibles ha sufrido un importante aumento en los últimos años. El biodiesel se define como un combustible líquido obtenido a partir de fuentes lipídicas naturales mediante transesterificación o esterificación que se usa como sustituto total o parcial del gasóleo obtenido del petróleo. Desde el año 2000, la producción mundial de biodiesel ha crecido de manera significativa gracias a políticas que fomentaban su consumo mediante la imposición normativa de porcentajes de utilización y diferentes ayudas y subvenciones a la producción por parte de los estados.

El proceso de producción industrial de biodiesel comprende las etapas de transesterificación y purificación, si se emplean materias primas con un grado de refino mínimo (eliminación de ácidos grasos libres y fosfolípidos). En caso de emplear aceites o grasas sin refinar, es necesario un pretratamiento. Si bien el proceso de producción no es complejo, el producto obtenido tiene una serie de desventajas en comparación con el gasóleo. Existen dos características que limitan, desde el punto de vista técnico, el uso del biodiesel: su menor resistencia a la oxidación, comparada con el diésel convencional, y los elevados puntos de congelación que presenta. La oxidación del biodiesel da lugar a un aumento de la viscosidad y acidez, con la consiguiente formación de sustancias insolubles. Estos problemas se traducen en el posible taponamiento de filtros y conducciones del motor. El elevado punto de congelación limita su uso en climas fríos, ya que pueden darse problemas de fluidez o incluso de obstrucción de filtros por la cristalización.

Las propiedades del biodiesel como combustible vienen determinadas por su composición. La oxidación del biodiesel está favorecida por altas temperaturas, presencia de oxígeno y luz, y presencia de metales capaces de catalizar las reacciones de oxidación. Las materias primas que contengan alto número de insaturaciones, serán más susceptibles a sufrir reacciones de oxidación. Por el contrario, el punto de congelación de los ésteres alquílicos saturados es mayor que el de compuestos insaturados. Además del número de insaturaciones, la longitud de la cadena hidrocarbonada es otro factor determinante, ya que la congelación tiene lugar a mayor temperatura cuanto mayor sea la cadena hidrocarbonada.

En la primera parte de este trabajo, se evaluó la efectividad de 4 aditivos antioxidantes comerciales en retrasar la oxidación de biodiesel obtenido a partir de diferentes aceites vegetales convencionales. A su vez, se analizó el efecto de incluir un ácido carboxílico

empleado como antioxidante, el ácido cítrico, como agente de purificación de los ésteres metílicos. El uso de ácidos para facilitar la purificación de los ésteres metílicos después de la transesterificación es un procedimiento comúnmente empleado. Puede tratarse de ácidos fuertes, como el sulfúrico o el clorhídrico, o de ácidos débiles, como el cítrico o el fosfórico.

Se emplearon aceites vegetales convencionales para la obtención de biodiesel de soja (SBME), colza (RME), girasol alto oleico (HOSME) y palma (PME). Se realizó una transesterificación en un reactor tanque que contaba con camisa de calefacción y sistema de agitación. Las condiciones de operación se fijaron en 60°C y una agitación de 600 rpm. Se empleó una relación molar de metanol respecto al aceite de 6:1 y metóxido potásico en concentración del 1%, calculado respecto al peso de aceite. Después de la separación de la glicerina formada por decantación, la purificación de los ésteres metílicos se realizó mediante dos procesos diferenciados: lavado con agua destilada y lavado con una disolución de ácido cítrico 0.1 M. Posteriormente, se sometió a las muestras a destilación a vacío para eliminar el metanol y el agua.

La estabilidad a la oxidación de las muestras se analizó mediante el método Rancimat, método de ensayo especificado en la norma europea EN 14214, que asegura la calidad del biodiesel.

Se añadieron diferentes aditivos comerciales en dosis desde 250 hasta 5000 ppm. Estos aditivos contenían en su formulación varios compuestos, y se identifican por su componente mayoritario: aditivo 1 (2,6-di-tert-butilfenol), aditivo 2 (2,6-di-tert-butilfenol y etoxiquina), aditivo 3 (galato de propilo) y aditivo 4 (mezcla de tocoferoles).

De esta manera se evaluó la estabilidad a la oxidación de las muestras en función de: aceite vegetal empleado, agente de lavado empleado en la purificación y compuesto mayoritario del aditivo antioxidante. A su vez, se analizó el efecto del ácido cítrico como agente de lavado en retrasar la oxidación catalizada por la presencia de cobre.

La inclusión del ácido cítrico en una etapa del proceso de producción dio lugar a biodiesel más resistente ante la oxidación, si se compara con el lavado con agua destilada, además de reducir la cantidad de agente de lavado requerida para eliminar las impurezas. Debido a su capacidad como agente quelante, también demostró retrasar la oxidación catalizada por la presencia de cobre.

Los aditivos antioxidantes son sustancias de origen natural o sintético capaces de retrasar la oxidación. Su efectividad depende de su estructura y de la dosis empleada. Son añadidos una vez se ha obtenido y purificado el biodiesel. De los antioxidantes analizados, el galato de

propilo, con tres grupos hidroxilo, demostró mayor efectividad frente a antioxidantes monofenólicos o amínicos como el 2,6-di-*tert*-butilfenol, los tocoferoles (mezcla de isómeros) o la etoxiquina. A su vez, el 2,6-di-*tert*-butilfenol resultó ligeramente más eficaz que otro compuesto monofenólico, 4-(2-metilprop-2-enil)fenol, debido al mayor impedimento estérico que proporcionan las sustituciones de grupos alquilo en posiciones *orto* referida al grupo hidroxilo, lo que ocurre en el caso del 2,6-di-*tert*-butilfenol, comparada con las sustituciones en posición *para* del 4-(2-metilprop-2-enil)fenol.

En general, el factor de mejora relativa, definido como la estabilidad de una muestra con aditivo respecto a la estabilidad sin aditivo, resultó mayor cuando las muestras habían sido lavadas con agua destilada. Sin embargo, el valor de la estabilidad resultó mayor en el caso de emplear aditivos en muestras purificadas con ácido.

Las muestras fueron almacenadas y a los 6 meses se volvió a analizar la estabilidad a la oxidación mediante el método Rancimat. En las muestras que no contenían aditivos, la oxidación relativa (expresada como la disminución del valor de la estabilidad durante los 6 meses de almacenamiento) resultó menor cuando la purificación se había realizado con ácido cítrico, excepto en el caso del biodiesel de palma. Sin embargo, cuando se analizaron las muestras que contenían algún aditivo, no se pudieron obtener conclusiones claras, ya que la oxidación producida era aleatoria comparando aditivo añadido o agente de lavado empleado. Es posible que la acción antioxidante del ácido cítrico no tenga un efecto prolongado en el tiempo y desaparezca al poco tiempo de almacenamiento por procesos de degradación de tal manera que sólo los antioxidantes sintéticos añadidos sean los responsables de la protección del biodiesel.

La necesidad de obtener un producto final que cumpla las especificaciones de las normas correspondientes, ha llevado a realizar numerosos estudios para optimizar el perfil lipídico del biodiesel mediante la mezcla de biodiesel procedente de diferentes materias primas. La mayoría de estos estudios emplean materias primas convencionales que contienen mayoritariamente ácidos grasos de 16 y 18 átomos de carbono. En este trabajo, se emplearon además materias primas con importante contenido en ácidos grasos saturados de cadena corta (entre 4 y 14 átomos de carbono), analizando su efecto en la estabilidad a la oxidación y en las propiedades a baja temperatura del biodiesel resultante.

En esta segunda parte se emplearon, además de los ésteres metílicos de aceites convencionales, biodiesel obtenido a partir de aceite de babaçu (BME) y de coco (COME).

Estos aceites tienen un contenido significativo de ácidos grasos de cadena corta. De la mezcla en diferentes proporciones de los 6 tipos de biodiesel obtenidos, se obtuvieron muestras cuya estabilidad a la oxidación y propiedades en frío fueron directamente relacionadas con la composición de ácidos grasos. La estabilidad a la oxidación se determinó por el método Rancimat y las propiedades en frío mediante el punto de obstrucción de filtros en frío (CFPP, del inglés Cold Filter Plugging Point). Es la mínima temperatura a la cual el biodiesel es capaz de atravesar un filtro en determinadas condiciones.

La estabilidad a la oxidación resultó prácticamente independiente de la longitud de la cadena, y se pudo correlacionar esta propiedad con el contenido de ésteres poliinsaturados con un coeficiente de correlación del 91%. El punto de obstrucción de filtros en frío (CFPP) está influido también por el número de insaturaciones, pero la longitud de la cadena hidrocarbonada de los ésteres saturados es un factor determinante. Esta propiedad se relacionó directamente con el contenido en ácidos grasos saturados de cadena larga (de 16 a 24 átomos de carbono) con un coeficiente de correlación del 95%.

Además de los problemas de funcionamiento mencionados, existen limitaciones en cuanto al uso a escala industrial de aceites vegetales para la obtención de biocombustibles. La pérdida de tierras cultivables, volatilidad del mercado de aceites y las emisiones de gases de efecto invernadero derivadas del cambio indirecto del uso de suelo son algunas de las cuestiones que han llevado a los estados a aplicar medidas que promuevan el uso de combustibles de segunda generación. Se entiende como biocombustibles de segunda generación aquellos que se generan a partir de materias primas no alimentarias, y que por tanto no implican la reducción de tierras agrícolas. El aprovechamiento de sustancias consideradas subproductos o desechos está ganando cierto auge, en especial el aceite de fritura usado. En este sentido, el uso residuos lipídicos obtenidos tras el procesado de grasas animales está siendo objeto de numerosas investigaciones, en parte por su bajo precio. En este trabajo, se estudió el uso de aceite de salmón obtenido como residuo en una fábrica de procesado en Noruega. Este aceite contenía un porcentaje de ácidos grasos libres elevado (en torno al 8% en masa) que hacía imposible llevar a cabo una transesterificación básica directa. La concentración de ácidos grasos libres máxima óptima para poder realizar una transesterificación básica oscila entre el 1 y el 2%. Fue necesario por tanto aplicar una etapa de pretratamiento para reducir el contenido en ácidos grasos de tal manera que se minimice la formación de jabones. Este pretratamiento consiste en una esterificación ácida donde los ácidos grasos libres se convierten en ésteres metílicos. Mediante el diseño de experimentos y

metodología de superficie de respuesta, se realizó la optimización de las condiciones de la esterificación con metanol y ácido sulfúrico de los ácidos grasos libres del aceite de salmón. Posteriormente se obtuvieron los parámetros cinéticos de la reacción de esterificación y por último se evaluaron las propiedades del biodiesel obtenido a partir de aceite de salmón.

Para la optimización de la esterificación del aceite de salmón, se realizó un diseño de experimentos variando la temperatura de reacción (T) entre 308 y 338 K, relación molar metanol:aceite (RM) entre 1:1 y 11:1 y el tiempo de reacción (t) desde 40 hasta 140 minutos. Se empleó un reactor cilíndrico encamisado de 500 cm³ de capacidad. La velocidad de agitación se fijó en 300 rpm y la cantidad de catalizador empleado, ácido sulfúrico, en 3% m/m. Para eliminar el metanol y ácido sulfúrico, las muestras se lavan con agua destilada mediante centrifugación a 1500 rpm.

Para el estudio cinético se realizaron 27 reacciones en las que se varió la concentración de catalizador (1-5%), la temperatura (314-332 K) y la relación molar metanol:aceite (3:1-9:1). Se mantuvieron fijas la presión (presión atmosférica), la velocidad de agitación (300 rpm) y el tiempo de reacción (180 min).

La extensión de la reacción se determinó a partir de la acidez de las muestras, analizada por valorimetría con hidróxido potásico 0.02 N y disolución indicadora de fenolftaleína.

A partir del diseño de experimentos aplicado a la esterificación del aceite de salmón, se obtuvo un modelo de segundo orden que reproducía de manera fiable los resultados experimentales. La relación molar metanol:aceite resultó ser la variable de mayor influencia en el proceso, seguida de la temperatura y en mucho menor medida, del tiempo de reacción.

Posteriormente se obtuvieron los parámetros cinéticos de la reacción de esterificación. Se empleó un mecanismo compuesto por 4 reacciones consecutivas: primero tiene lugar la formación de un sustrato carboxílico protonado por reacción entre el ácido graso libre y el ácido sulfúrico. De la reacción de este sustrato con el metanol tienen lugar la formación de dos intermedios, agua y finalmente tiene lugar la formación, mediante la pérdida de un protón, del éster metílico correspondiente y la regeneración del ácido sulfúrico. El modelo cinético obtenido, con 8 parámetros independientes, describió los datos experimentales con un coeficiente de correlación del 91%.

Tras la obtención de biodiesel a partir de aceite de salmón mediante las etapas de esterificación ácida y transesterificación básica, se analizaron las propiedades como combustible. La acidez, viscosidad, punto de inflamación y densidad, se encontraban dentro de los valores requeridos por la norma europea EN 14214. Sin embargo, el valor de la

estabilidad a la oxidación resultó especialmente bajo (0.90-0.95 h), debido al elevado contenido de ácidos grasos con 3, 5 y hasta 6 dobles enlaces. El CFPP obtenido fue de -7°C, valor especialmente bajo si se compara con biodiesel obtenido de otras fuentes animales o aceites alternativos. Sin embargo, aún puede considerarse una limitación para su uso en climas fríos.

SUMMARY

Biofuels consumption has suffered a significant increase in recent years. The environmental issues associated with fossil fuels and the problems derived from the foreign energetic dependence are gaining weight. Biodiesel is defined as a liquid fuel produced from renewable lipidic sources through esterification or transesterification that can be used as a total or partial substitute for diesel produced from oil. Since 2000, the biodiesel production has been rising rapidly due to different policies which promoted its consumption by means of the enforcement of regulations, such as subsidies and mandated use of biodiesel.

Refined oils can be directly converted to biodiesel by transesterification and purification. However, if non refined materials are used, a pretreatment step is required. Production method is quite simple but biodiesel has some disadvantages compared to diesel fuel. From a technical point of view, there are mainly two issues that can limit its use as fuel for transportation purposes: its poor oxidative stability and high melting point, compared to diesel fuel. The deterioration of fatty acid alkyl esters leads to viscosity and acid value increases, and the secondary products formation which can block filters. Performance in cold weather can limit the use of biodiesel as diesel substitute, since crystals can block vehicle filters and settle in storage tanks.

The fatty acid oxidation is promoted by high temperatures, oxygen, light and impurities such as trace of metals. The auto-oxidation is a classic free radical chain reaction, with initiation, propagation and termination phases. Lipid oxidation is initiated by the hydrogen abstraction from the fatty acids. The oxidation rate of biodiesel depends on the fatty acid composition. The olefinic compounds are more easily attacked by the initiators and especially the bis-allylic carbons, presented in methylene-interrupted polyunsaturated structures. Raw materials with unsaturation will lead to easily oxidizable biodiesel. Fuel properties of the resulting methyl esters are strongly influenced by the fatty acid profile of the raw material used. Biodiesel oxidation is favoured by high temperature, exposure to air and light and presence of metal traces. Unsaturated fatty esters will lead to a more oxidizable products than the saturated ones. But saturated methyl esters have higher melting points, and these values also increase with increasing chain length.

In the first part of the present work, the effectiveness of four commercial antioxidants was evaluated. Antioxidants are natural or synthetic substances that delay the oxidation process, extending its useful life. The effectiveness of the antioxidants depends on the

chemical structure and the antioxidant amount. In addition, a carboxylic acid commonly used as antioxidant was employed as washing agent in the purification step of biodiesel production. Once glycerine and methyl ester phase have been separated by decantation, the methyl ester phase is washed with water. This method called “wet wash” is widely used. Water is usually acidified in order to improve the impurities removal. The acidifier agent can be a strong acid, such as sulfuric or hydrochloric acid, or a weak acid, such as phosphoric or citric acid.

Fatty acid methyl esters were obtained from different vegetable oils: soybean (SBME), rapeseed (RME), high oleic sunflower (HOSME) and palm (PME). Transesterification reaction was carried out on a stirred batch reactor. Reactor was provided with a jacket, reflux condenser and agitation system. The catalyst (potassium methoxide) concentration was 1% w/w, the methanol to oil molar ratio was 6:1, and temperature and agitation speed were set in 60°C and 600 rpm, respectively. Methyl ester and glycerol phases were separated by decantation and methyl ester phase was purified with two washing agents: distilled water and a 0.1M citric acid solution. Finally, methyl ester phase was distilled under moderate vacuum to remove water and methanol traces.

The oxidative stability of the samples was determined by means of Rancimat method, in the conditions described in the standard EN 14214. The influence of four commercial additives was tested in the biodiesel samples in a concentration range of 250-5000 ppm. . These additives were mixtures of different compounds, so they were identified by their main component: antioxidant 1 (2,6-di-tert-butylphenol), antioxidant 2 (2,6-di-tert-butylphenol and ethoxyquine), antioxidant 3 (propyl gallate) and antioxidant 4 (mixed tocopherols).

Oxidative stability of the samples was then analysed by: raw material used, washing agent used in purification and main component of the commercial additive. Furthermore, ability of citric acid in delaying biodiesel degradation in presence of copper was also tested.

When citric acid was used to purify the methyl ester phase, the volume required to remove impurities was almost halved if compared to purification with distilled water. As a chelating agent, it also prevented biodiesel oxidation in presence of copper.

Antioxidants are synthetic or natural substances that delay the oxidation process of biodiesel extending its useful life. The effectiveness depends on the molecular structure and the concentration added to biodiesel. Among the antioxidants tested, propyl gallate, with three hydroxyl groups, resulted more effective than monophenolic (2,6-di-tert-butylphenol or tocopherols) or aminic (etoxiquin) compounds. In addition, 2,6-di-tert-butylphenol was more effective than other monophenolic compound, 4-(2-methylprop-2-enyl)phenol, probably due to

the higher stearic hindrance provided by *orto* alkyl substituents. The improvement factors, defined as the ratio of the oxidative stability of the sample with additive to the oxidative stability of the neat sample, were in most cases higher when purification had been done with distilled water. However, the oxidation stability values of the samples resulted higher when a citric acid wash had been carried out.

Samples were stored for 6 months, and Rancimat test was used to measure the oxidative stability of the aged samples. In neat samples (without any antioxidant), the relative degradation (expressed as the percentage decrease in oxidative stability during the storage period) resulted lower when samples had been washed with the acidic solution, except for the PME sample. However, when oxidative stability of samples with additive was determined, results did not allow drawing clear conclusions since degradation seemed to be haphazard. It might be assumed that citric acid has a short-lasting effect, and commercial additives are then responsible for protection against biodiesel oxidation.

The need to obtain a product stable against oxidation has led to make different approaches. In order to optimize the fatty acid profile that leads to a high quality fuel, properties of blends of biodiesel from different feedstocks have been analysed. Most of the studies in blending biodiesel have only focused on raw material primarily composed by fatty acids with 16 or 18 carbon atoms. In the present work, vegetable oils with high content in short-chain saturated fatty acids have been included, in order to determine the influence of not only double bonds but also chain length on the oxidative stability and melting points of biodiesel. In order to analyse the influence of fatty acid profile on fuel properties of biodiesel, methyl esters from babaçu and coconut oil were produced, BME and COME, respectively. Pure vegetable oil methyl esters were blended in different proportions in order to obtain an extended fatty esters profile. Oxidative stability of the samples was then measured and the cold weather performance was determined through the cold filter plugging point (CFPP), which is the lowest temperature at which fuel still flows through a specific filter.

Properties of the biodiesel blends were correlated with the fatty acid profile. Oxidative stability resulted highly dependent on the polyunsaturated fatty acids, while it seemed to be independent on the chain length; it was directly related to polyunsaturated fraction with an adjusted coefficient of determination of 91%. Cold flow properties resulted highly influenced by the length of the hydrocarbon chain. CFPP values were correlated with long-chain saturated fatty acids concentration with a coefficient of determination of 95%.

Besides the above mentioned technical issues, questions have been raised about the drawbacks of the large-scale use of vegetable oils as an energy source. The loss of arable lands, the counter effects resulting from the change of land use and the high volatility of oil markets are, among many others, important issues that have been considered in order to promote second generation biofuels. Second generation fuels are produced from non-edible oils, and they do not imply the use of arable lands. As a response to this issue, waste frying oil and biomass from animal sources are being widely studied. In the present study, the use of waste salmon oil from a fish-processing factory in Norway was developed. The salmon oil was directly used in the experiments without any refining process. Due to the high content in free fatty acids (8% w/w), it was impossible to directly subject it to a base catalysed transesterification of the oil to alkyl esters. Maximum free fatty acids content for alkaline transesterification varies between 1 and 2 % wt. Two step processes are usually used. In the first step, free fatty acids are esterified to esters, so that a following basic-catalyzed transesterification can be performed without saponification problems. A previous acid catalysed esterification was then required in order to convert the free fatty acids into alkyl esters and minimize the soap formation in the consecutive base catalysed transesterification. Factorial design and response surface methodology (RSM) were used to optimise the esterification reaction with methanol and sulfuric acid. The influence of temperature, methanol to oil molar ratio and reaction time was analysed. The kinetic parameters of the esterification reaction were also obtained. After acid oil esterification, the non-acidic oil was subjected to a homogeneous base-catalysed transesterification in order to analyse fuel properties of the resulting methyl esters.

Factorial design was used to optimise esterification process. Operation conditions were varied as follows: temperature reaction (T) from 308 to 338 K, methanol to oil molar ratio from 1:1 to 11:1 and reaction time (t) from 40 to 140 minutes.

Esterification of salmon oil was carried out in a lab-scale reactor provided with a warming jacket and magnetic stirrer. The stirring speed was set as 300 rpm and sulfuric acid concentration was fixed at a value of 3% by weight of salmon oil. Distilled water was added to the samples to stop the reaction and remove methanol and catalyst and they were then centrifuged 20 min at 1500 rpm to improve the separation of the phases.

For the kinetic study of the fish oil esterification, a total of 27 reactions were used in this study. Reactions were carried out at 314, 323, and 332 K, with methanol-to-oil molar ratio 3:1, 6:1, and 9:1 and catalyst concentration values of 1, 3, and 5% wt.

The acidity of the samples was measured by means of a titration method with a 0.02 N solution of KOH and phenolphthalein as indicator. Free fatty acid conversion was then calculated using acidity values.

From the experimental design of the esterification of free fatty acids from salmon oil, a second order model was obtained, which adequately predicted the experimental results over the range studied. Methanol to oil ratio was found to be the most determinant parameter in free fatty acids conversion.

A reaction mechanism of the esterification with four consecutive reactions was considered and the attack of the nucleophile alcohol to the protonated carbonyl substrate was corroborated to be the rate-determining step, in accordance to previous studies in free fatty acids esterification. A kinetic model with 8 independent parameters described with high accuracy the experimental data of 27 reactions with a regression coefficient of 91 %.

Pre-esterified oil was submitted to transesterification and properties of resulting methyl esters were measured. Acidity, peroxide value, viscosity and flash point were acceptable to use as diesel-grade fuel. Induction period measured was 0.95 h, probably due to the high content in polyunsaturated fatty acids of salmon oil.

Compared to other animal and vegetable sources, salmon oil led to methyl esters with better performance at low temperatures, with a CFPP of -7°C . Direct use of fish oil in diesel engines can cause problems derived from low lubricity, high viscosity, bad cold flow properties and high acidity. Turning it into methyl esters, some of these problems can be solved. But still the performance in cold weather and resistance against oxidation are the major constraints for using pure methyl esters as diesel substitute.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	69
III.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	73
IV.	MÉTODOS DE ANÁLISIS	95
V.	ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD A LA OXIDACIÓN	135
VI.	INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN DE LAS MATERIAS PRIMAS EN LAS PROPIEDADES COMO COMBUSTIBLE	159
VII.	OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE ACEITE DE SALMÓN	177
VIII.	CONCLUSIONES	201
IX.	ANEXOS	205

NOMENCLATURA

BAPE: posiciones bisalílicas equivalentes (del inglés: bys-allylic position equivalent).

BME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de babaçu (del inglés babaçu methyl ester).

C_E: concentración de ésteres metílicos (mol/l).

C_{FFA}: concentración de ácidos grasos libres (mol/l).

C_{FFA0}: concentración de ácidos grasos libres inicial (mol/l).

CFPP: punto de obstrucción de filtros en frío (°C).

C_M: concentración de metanol (mol/l).

COME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de coco (del inglés coconut methyl ester).

C_w: concentración de agua (mol/l).

E_{ai}: la energía de activación de las reacciones (cal/(K·mol)).

FFA: ácidos grasos libres (del inglés free fatty acids).

HOSME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de girasol, con alto contenido en ácido oleico (del inglés high oleic sunflower methyl ester).

IP: periodo de inducción medido acorde al método Rancimat (del inglés Induction Period).

k_i: constante cinética.

K_i: constante de adsorción.

k_{i∞}: factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius.

m: concentración de catalizador (kg/l).

m₀: concentración inicial de catalizador (kg/l).

PME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de palma (del inglés palm methyl ester).

R: constante de los gases ideales (1.987 cal/(K·mol)).

R²_{adj}: coeficiente de determinación ajustado.

RM: relación molar metanol : aceite.

RME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de colza (del inglés rapeseed methyl ester).

RMSE: error cuadrático medio (del inglés root mean squared error).

SBME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de soja (del inglés soybean methyl ester).

T: temperatura (K).

t: tiempo de reacción (min).

X_{FFA}: conversión de ácidos grasos libres (porcentaje o tanto por uno, según se indique).

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.1. Anuncio publicitario de Cleveland Discol, combustible mezcla de gasolina y etanol de origen vegetal, London Times, Junio 1973.
- Figura 1.2. Foto tomada en una gasolinera en Nebraska, anunciando gasolina con un 10% de etanol derivado de maíz (Abril, 1933).
- Figura 1.3 Distribución mundial del consumo de energía final y distribución de emisiones de gases de efecto invernadero por sector.
- Figura 1.4. Estructura de ácido esteárico (saturado), oleico (monoinsaturado), linoleíco (poliinsaturado ω -6) y linolénico (poliinsaturado ω -3).
- Figura 1.5. Estructura cis y trans de ácidos grasos insaturados.
- Figura 1.6. Esquema de reacción de transesterificación.
- Figura 1.7. Evolución de la reacción de transesterificación. Concentración relativa de triglicéridos, di- y monoglicéridos (intermediarios) y ésteres metílicos.
- Figura 1.8. Conversión de aceite de girasol en la metanolísis con hidróxidos de metales alcalinos.
- Figura 1.9. Evolución de la producción mundial de biodiesel por regiones.
- Figuras 1.10. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en la Unión Europea.
- Figuras 1.11. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en Estados Unidos.
- Figuras 1.12. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en Canadá.
- Figuras 1.13. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en Brasil.
- Figuras 1.14. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en Argentina.
- Figuras 1.15. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en países del sudeste asiático: Indonesia, Malasia y Tailandia.
- Figuras 1.16. Materias primas empleadas en la producción de biodiesel en la Unión Europea.
- Figura 1.17. Producción mundial de los principales aceites vegetales.
- Figura 1.18. Estructura del ácido ricinoleico.

- Figura 1.19. Variación del punto de inflamación con el contenido en metanol.
- Figura 1.20. Estructura del ácido linoleico (dobles enlaces no conjugados) y ácido ruménico (dobles enlaces conjugados).
- Figura 1.21. Medida de la estabilidad a la oxidación de estearato de metilo (C18:0ME), oleato de metilo (C18:1ME), linoleato de metilo (C18:2ME) y linolenato de metilo (C18:3ME).
- Figura 1.22. Estructura del α -Tocoferol y α -Tocotrienol.
- Figura 1.23. Estructura de antioxidantes fenólicos sintéticos.
- Figura 1.24. Estructura del ácido gálico y ésteres derivados.
- Figura 1.25. Antioxidantes empleados para formar quelatos con metales pesados.
- Figura 1.26. Estructura del ácido ascórbico (origen natural) y palmitato de ascorbilo (origen sintético).
- Figura 1.27. Punto de fluidez (PP) y punto de niebla (CP) de mezclas biodiesel-diésel en función del contenido de biodiesel de aceite de soja.
- Figura 1.28. Estructura de EVA (etilvinilacetato) y polimetacrilato.
- Figura 3.1. Instalación empleada para la reacción: reactor.
- Figura 3.2. Instalación empleada para la reacción: tapa del reactor y otros elementos.
- Figura 3.3. Gráficas de contorno resultantes del diseño de experimentos aplicado a la optimización de la producción de biodiesel a partir de aceite de girasol.
- Figura 3.4. Instalación empleada para el lavado: tapa del reactor y otros elementos.
- Figura 3.5 Instalación del reactor cilíndrico empleado en la esterificación.
- Figura 3.6. Baño termostático con bomba para recirculación de agua.
- Figura 3.7 Placa calefactora y de agitación (sólo es empleada para la agitación de la mezcla de reacción).
- Figura 3.8 Centrifugadora de laboratorio.
- Figura 4.1. Estructura del dimetilpolisiloxano y fenil metilpolisiloxano.
- Figura 4.2. Cromatograma de compuestos de referencia: trioleína, dioleína y monooleína.
- Figura 4.3. Calibrado para los compuestos de referencia: monooleína, dioleína y trioleína.
- Figura 4.4. Equipo automático empleado para la determinación del contenido en agua.
- Figura 4.5. Equipo automático empleado para la determinación del Índice de Yodo.
- Figura 4.6. Equipo automático empleado para la determinación de la acidez.
- Figura 4.7. Instrumental empleado para la determinación manual de la acidez.
- Figura 4.8. Instalación empleada para la determinación de la viscosidad: baño.

- Figura 4.9. Viscosímetro.
- Figura 4.10. Densímetro automático.
- Figura 4.11. Equipo de medición del punto de inflamación.
- Figura 4.12. Detalle de la cubierta del vaso de muestra en la determinación del punto de inflamación.
- Figura 4.13. Analizador portátil empleado para la medición del índice de cetano.
- Figura 4.14. Calorimetría diferencial de barrido empleada para el análisis de las propiedades del biodiesel a bajas temperaturas.
- Figura 4.15. Evolución del proceso de cristalización y solidificación.
- Figura 4.16. Analizador automático para la determinación de las propiedades en frío.
- Figura 4.17. Calorimetría diferencial de barrido empleada para el análisis de la resistencia a la oxidación del biodiesel.
- Figura 4.18. Calorimetría diferencial de barrido empleada para el análisis de la resistencia a la oxidación del biodiesel.
- Figura 4.19. Equipo Rancimat® empleado para la medida de la estabilidad a la oxidación del biodiesel.
- Figura 4.20. Detalle del funcionamiento del equipo Rancimat®.
- Figura 4.21. Ejemplo de gráficas obtenidas en la determinación del tiempo de inducción con el equipo Rancimat®.
- Figura 5.1. Valores del periodo de inducción de muestras lavadas con agua y muestras lavadas con ácido cítrico (a). Composición de los aceites vegetales empleados (b).
- Figura 5.2. Estabilidad a la oxidación con el aditivo 1.
- Figura 5.3. Estructura del 2,6-di-tert-butilfenol (compuesto del aditivo 1) y del 4-(2-metilprop-2-enil)fenol, como ejemplo de sustituciones alquílicas en posición *orto* y *para* (respecto al grupo hidroxilo –OH), respectivamente.
- Figura 5.4. Estabilidad a la oxidación con el aditivo 2.
- Figura 5.5. Estabilidad a la oxidación con el aditivo 3.
- Figura 5.6. Estructura del ricinoleato del ácido kójico y del oleato del ácido kójico.
- Figura 5.7. Estabilidad a la oxidación con el aditivo 4.
- Figura 5.8. Estabilidad a la oxidación del RME lavado con agua destilada, y tras la adición de 1000 ppm de: mezcla de tocoferoles, palmitato de ascorbilo, mezcla tocoferoles-palmitato de ascorbilo (1:1) y aditivo 4.

- Figura 5.9. Estabilidad a la oxidación de RME (3 gramos) en presencia de cobre.
- Figura 5.10. Estabilidad a la oxidación del biodiesel antes y después de 6 meses de almacenamiento.
- Figura 5.11. Estabilidad a la oxidación del biodiesel antes y después de 6 meses de almacenamiento con aditivo (1000 ppm).
- Figura 6.1. Diagrama ternario: Periodo de inducción (h).
- Figura 6.2. Periodo de Inducción frente a ésteres saturados, monoinsaturados y poliinsaturados.
- Figura 6.3. Representación de los datos experimentales acorde a: (a) BAPE y (b) Inversa del contenido en ésteres poliinsaturados.
- Figura 6.4. Diagrama ternario: Punto de obstrucción de filtros en frío (°C).
- Figura 6.5. CFPP frente a ésteres saturados de cadena corta (C4-C14), ésteres saturados de cadena larga (C16-C24) e insaturados.
- Figura 6.6. Representación de los datos experimentales acorde a: (a) Linoleato de Metilo (%), (b) Palmitato de Metilo (%) y (c) contenido total de ésteres saturados.
- Figura 6.7. Extrapolación de la gráfica añadiendo el valor del punto de fusión de palmitato de metilo puro (100%, 30°C).
- Figura 6.8. (a) Periodo de Inducción y CFPP de mezclas binarias RME-PME. (b) Periodo de Inducción y CFPP de mezclas binarias RME-COME.
- Figura 7.1. Representación de los valores experimentales frente a los teóricos de la conversión de ácidos grasos libres.
- Figura 7.2. Representación de los valores residuales frente a los teóricos de la conversión de ácidos grasos libres.
- Figura 7.3. Efectos principales e interacciones entre los factores.
- Figura 7.4. Superficies de respuesta generadas por el modelo de segundo orden.
- Figura 7.5. Modelo de reacción para la esterificación de ácidos carboxílicos.
- Figura 7.6. Modelo de reacción para la esterificación de ácidos grasos libres empleado en este estudio.
- Figura 7.7. Representación de datos experimentales y modelo cinético para reacciones fuera del intervalo estudiado.

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.1. Requisitos y métodos de ensayo de la norma europea EN 14214:2012
- Tabla 1.2. Requisitos para el CFPP (punto de obstrucción de filtros en frío) según la norma EN 14214:2012.
- Tabla 1.3. Ácidos orgánicos de cadena corta producidos en la oxidación del biodiesel 100 % (B100), mezcla diesel-biodiesel 5% (B5) y diesel.
- Tabla 1.4. Puntos de fusión de ácidos grasos y sus ésteres metílicos.
- Tabla 1.5. Propiedades en frío de aceite de soja transesterificado con diferentes alcoholes.
- Tabla 3.1 Especificaciones de los aceites vegetales.
- Tabla 3.2 Especificaciones del metanol.
- Tabla 3.3 Especificaciones del metóxido de potasio.
- Tabla 3.4 Especificaciones del ácido cítrico.
- Tabla 3.5. Componentes y propiedades de los aditivos antioxidantes empleados.
- Tabla 3.6 Especificaciones del aceite de babaçu y coco.
- Tabla 3.7. Especificaciones proporcionadas por el suministrador del aceite de salmón.
- Tabla 3.8 Especificaciones del ácido sulfúrico.
- Tabla 4.1 Condiciones de operación de la columna.
- Tabla 4.2 Rampa de temperatura de operación de la columna.
- Tabla 4.3 Tiempos de retención de acilglicéridos.
- Tabla 5.1. Propiedades de los aceites vegetales.
- Tabla 5.2. Propiedades de los ésteres metílicos.
- Tabla 6.1. Propiedades de los aceites vegetales.
- Tabla 6.2. Propiedades de los ésteres metílicos.
- Tabla 6.3. Comparación con otros modelos de predicción de la estabilidad a la oxidación.
- Tabla 6.4. Comparación con otros modelos de predicción del CFPP.
- Tabla 7.1. Composición y análisis del aceite de salmón.
- Tabla 7.2. Valores de los niveles de las variables de operación.
- Tabla 7.3. Matriz de experimentos y resultados.
- Tabla 7.4. Análisis estadístico para el modelo de segundo orden.
- Tabla 7.5. Modelos matemáticos de segundo orden.
- Tabla 7.6. Combinaciones de variables que dan lugar a conversiones de ácidos grasos de 88 y 76%.

- Tabla 7.7. Condiciones de operación empleadas para la obtención del modelo cinético.
- Tabla 7.8. Parámetros cinéticos.
- Tabla 7.9. Propiedades de los ésteres metílicos del aceite de salmón.
- Tabla 7.10. Propiedades de ésteres metílicos derivados de materias primas con alto contenido en ácidos grasos insaturados.

I. INTRODUCCIÓN

1.1.	Historia de los biocombustibles	3
1.2.	Análisis del sector transporte	5
1.3.	Materias primas para la producción de biodiesel.....	7
1.4.	Procesos de producción de biodiesel	9
1.4.1.	Transesterificación catalítica	11
1.4.2.	Transesterificación no catalizada.....	16
1.4.3.	Transesterificación asistida por ultrasonidos.....	16
1.4.4.	Transesterificación asistida por microondas.....	17
1.4.5.	Transesterificación en reactores de membrana.....	17
1.5.	Operaciones de purificación de biodiesel	17
1.5.1.	Lavado húmedo	18
1.5.2.	Lavado seco	20
1.6.	Producción y mercado de biodiesel	21
1.6.1.	Unión Europea.....	22
1.6.2.	Estados Unidos	24
1.6.3.	Canadá	25
1.6.4.	Sudamérica	26
1.6.5.	Sudeste asiático: Indonesia, Malasia y Tailandia	28
1.7.	Transición en el uso de materias primas	29
1.7.1.	Aceites vegetales convencionales.....	32
1.7.2.	Aceites vegetales de uso no alimentario.....	33
1.7.3.	Aceites de fritura usados.....	34
1.7.4.	Grasas de origen animal	34
1.7.5.	Microalgas	36

1.7.6. Otras materias primas	36
1.8. Legislación y regulación	37
1.9. Norma europea en 14214:2012. Calidad del biodiesel	38
1.10. Los ésteres metílicos de ácidos grasos como combustible de automoción.....	44
1.10.1. Estabilidad a la oxidación	45
1.10.2. Temperaturas de congelación y cristalización	55
1.11. Referencias.....	61

1.1. Historia de los biocombustibles

La biomasa ha sido una fuente energética empleada durante la mayor parte de la historia de la humanidad. La combustión de madera y de restos de poda ha sido aprovechada para cocinar, calefacción o fabricación de elementos a base de cerámica. Durante los siglos XVI y XVII, se siguieron empleando aceites de origen vegetal o animal (aceite de ballena) como combustibles para lámparas. El aceite de ballena dejó de usarse cuando surgió un método efectivo y barato para el refinado del keroseno en 1846.

Los primeros motores de combustión interna funcionaban con gas de carbón mezclado con aire. El motor diésel fue inventado en 1893 por el alemán Rudolf Diesel (1858-1913). Su tratado fue traducido al inglés en 1984, y publicado como “The theory and construction of a rational heat motor”. Este motor funcionando con aceite de cacahuete fue presentado en la Exposición Internacional de París en 1900. Entre 1911 y 1912, Rudolf Diesel declaró que “el motor diesel puede ser empleado con aceite vegetal, lo que supondrá una fuerte contribución al desarrollo de la agricultura de los países”. Las primeras pruebas de durabilidad, indicaban que las mezclas de diesel con aceite vegetal provocarían fallos prematuros en el motor. Esto no ocurría cuando el aceite era transesterificado con alcohol.

Henry Ford diseñó el automóvil Modelo T, que fue comercializado desde 1903 hasta 1926. En un principio, este motor funcionaba con combustible derivado del cáñamo; sin embargo, la gasolina se convirtió en un combustible barato, reemplazando a las fuentes de origen vegetal. Entre 1920 y 1924, la Standard Oil Company comercializó un 25% de etanol en la gasolina vendida en Baltimore (Maryland). Durante los años 20, se comercializaban ya gasolinas con mezcla de etanol derivado de cultivos: Gasonol, Koolmotor, Benzalcohol, Moltaco, Lattybentyl, Agrol, etc. en países como Filipinas, Reino Unido, Italia, Hungría, Suecia y Estados Unidos, respectivamente. Las figuras 1.1 y 1.2 corresponden a anuncios publicitarios de carburante formado por mezclas de gasolina y etanol derivado de fuentes renovables.

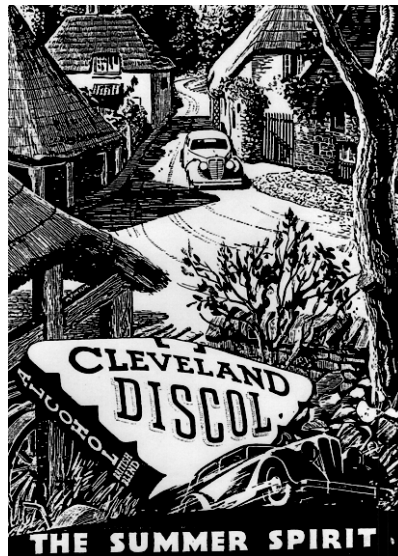


Figura 1.1. Anuncio publicitario de Cleveland Discol, combustible mezcla de gasolina y etanol de origen vegetal, London Times, Junio 1973.



Figura 1.2. Foto tomada en 1933, en una gasolinera en Nebraska, anunciando gasolina con un 10% de etanol derivado de maíz (Kovarík, 1998)

El elevado precio del maíz, y la excelente disponibilidad a bajo coste del petróleo hizo que la gasolina reemplazara por completo al etanol de origen vegetal. La patente titulada “Procedimiento para la transformación de aceites vegetales para su uso como combustible” data de 1937 y es obra del belga G. Chavanne. En ella se describe la etanolísis de aceite de palma mediante transesterificación catalítica ácida. Con el auge del petróleo, su refinado para obtener gasolina daba lugar a un superávit de destilado, excelente combustible para motores diesel y mucho más barato que los aceites vegetales (Radich, 2004).

Durante la segunda Guerra Mundial, tuvo lugar una elevada demanda de biocombustibles debido a las dificultades para importar crudo. De este modo, en Alemania se empleaba gasolina mezclada con etanol derivado de la patata, o en Gran Bretaña se comercializó alcohol de grano (etanol derivado de cereales) para mezclarlo con gasolina. Después de la segunda Guerra Mundial, la abundancia y bajo precio del petróleo procedente de países del Golfo Pérsico o de Oriente Medio hizo que se reemplazaran los combustibles de origen vegetal.

Las crisis que tuvieron lugar en 1973 y en 1979 hicieron que aumentara el interés en los biocombustibles tanto en Estados Unidos como en Europa, debido a los cortes de suministro de petróleo procedente de países miembros de la OPEP (Organización de Países Árabes Exportadores de Petróleo) en 1973 y a al elevado precio del barril de crudo debido las revueltas en Irán (1978) y el comienzo de la guerra entre Irán e Irak (1980-1988).

Durante esos años, en Alemania y Austria tienen lugar las primeras pruebas con diésel obtenido a partir de aceite vegetal. En Sudáfrica se produce biodiesel mediante transesterificación de aceite de girasol que es empleado en vehículos pesados. En 1983 se completa y publica el proceso completo para la transesterificación de aceites vegetales para su uso como combustible. Esta tecnología fue comprada por la empresa austriaca Gaskoks y en 1987 se construye la primera planta piloto de biodiesel en Silberberg, Austria. Empleaba semillas de colza. En 1989, esta compañía establece la primera planta industrial.

En 1978 comienza un programa de investigación, llamado Aquatic Species Program financiado por el Departamento de Energía de los Estados Unidos. Durante casi dos décadas este programa tuvo como objetivo principal el uso de algas para la obtención de energía. Aunque en un principio la investigación estaba centrada en la obtención de hidrógeno, a partir de los años 80 la obtención de biodiesel obtuvo mayor importancia. Este programa de investigación finalizó en 1996 debido a la interrupción de los fondos.

1.2. Análisis del sector transporte

El sector transporte representa aproximadamente un cuarto del consumo de energía a nivel mundial. En algunos países, esta cifra aumenta hasta suponer un tercio del consumo energético total. Puesto que el transporte se fundamenta en el uso de energías fósiles, los gases de efecto invernadero emitidos suponen un 13% del balance global de emisiones. Si se

hace referencia al dióxido de carbono, esta cifra aumenta al 23%, y es previsible que crezca hasta el 40% para el año 2050. En la figura 1.3 se muestra la distribución mundial del consumo de energía mundial y de las emisiones de gases de efecto invernadero.

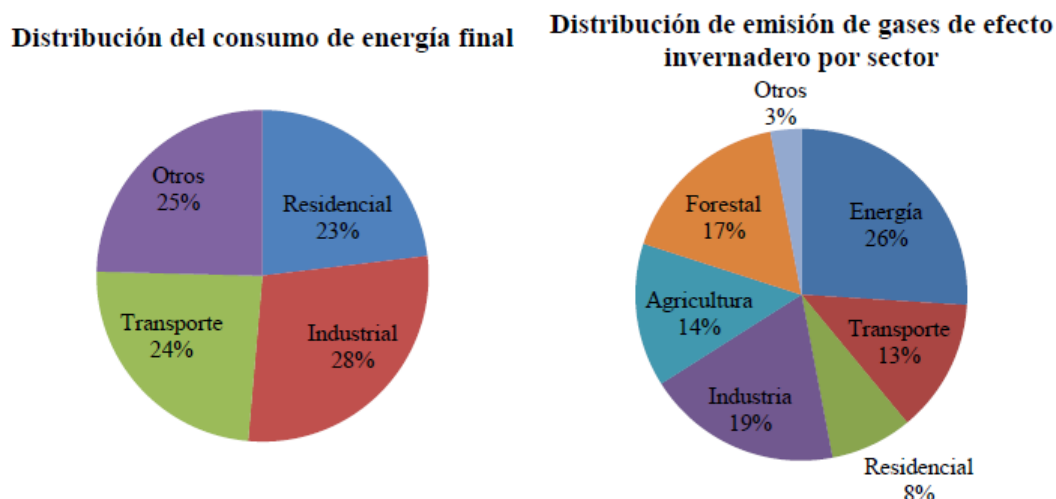


Figura 1.3 Distribución mundial del consumo de energía final y distribución de emisiones de gases de efecto invernadero por sector.

Mientras el consumo energético relacionado con el transporte por parte de los países que forman parte de la OCDE se mantiene relativamente constante (incluso con predicciones de disminución en un 0.1% anual), el resto de países se espera que incrementen su demanda para el año 2040 hasta casi el doble de la actual (EIA, 2013). En 2010, los países no pertenecientes a la OCDE fueron los responsables del consumo del 43% de la energía destinada al transporte, cifra que se espera que aumente hasta un 60% en el año 2040.

La Convención Marco de Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (UNFCCC, en sus siglas en inglés) surgió de la Cumbre de la Tierra celebrada en Rio de Janeiro en 1992. En 1997, los países miembros de la misma, aprobaron el Protocolo de Kioto, donde se comprometían a la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero usando como referencia el año 1990 (aunque se marcó como norma el que se redujera en un 5,2% entre el 2008 y 2012). La magnitud de estas reducciones varía de un país a otro. En 2012 concluyó la primera fase del protocolo, cuya extensión hasta el año 2020 fue aprobada en la conferencia celebrada en Doha, Qatar, pero sólo por algunos países. Las emisiones de la Unión Europea han disminuido en un 19.2% desde 1990. Sin embargo, esta reducción puede significar que las toneladas emitidas de gases de efecto invernadero aumenten, como es el caso de España,

donde la reducción se basa en los mecanismos de flexibilidad establecidos, fundamentalmente la compra de derechos de emisión procedentes de otros países.

El Objetivo 20-20-20 adoptada por la Comisión Europea en 2009 (y puesta en marcha a través de la Directiva 2012/27/UE), pretende la mejora energética en un 20% (referido a energía del sector primario), un 20% de reducción de gases de efecto invernadero respecto a 1990 y la inclusión de energías renovables en un 20% del total del consumo energético, todo para el año 2020. Recientemente, se ha adoptado un marco de regulación donde se plantea la reducción de emisiones por parte del sector transporte respecto a los niveles de 1990 en los siguientes porcentajes: 40% para el año 2030, 60% para el año 2040 y 80% para el año 2050.

Para lograr el cumplimiento de los compromisos ambientales y conseguir una relativa independencia energética, los países han centrado parte de sus esfuerzos en la incorporación de combustibles derivados de fuentes renovables para el transporte.

1.3. Materias primas para la producción de biodiesel

Se emplean materias primas oleaginosas, las cuales están compuestas principalmente por triglicéridos, que son ésteres de ácidos grasos con alcohol glicerol. Son moléculas hidrofóbicas y existen muchos tipos dependiendo de los ácidos grasos esterificados. Se pueden clasificar como triglicéridos simples (los ácidos grasos esterificados son los mismos. Ej.: tripalmitina o tripalmitoglicerol) o mixtos (contienen dos o más ácidos grasos diferentes).

Los ácidos grasos son ácidos orgánicos de cadena larga lineal e hidrocarbonada (no polar) y un solo grupo carboxilo. La diversidad entre aceites y grasas está determinada por la naturaleza de los ácidos grasos, que pueden diferir en varios aspectos:

Longitud de la cadena hidrocarbonada: en vegetales y animales pueden encontrarse ácidos grasos que contienen desde 4 hasta 26 átomos de carbono. En ceras, pueden encontrarse hasta de 28 átomos de carbono.

Presencia y número de insaturaciones: da lugar a la división de ácidos grasos saturados (compuestos sólo por enlaces simples) e insaturados (con uno o más dobles enlaces en la cadena hidrocarbonada).

- Ácidos grasos saturados: el menor ácido grasos saturado es el butírico C4, denominado así porque se encontró por primera vez en la mantequilla (butter, en inglés).
- Ácidos grasos monoinsaturados: presentan un único doble enlace, frecuentemente entre los carbono 9 y 10. El menor es el ácido caproleico C10:1, encontrado en bajas concentraciones en leche. El único ácido graso monoinsaturado encontrado con abundancia es el ácido oleico, C18:1.
- Ácidos grasos poliinsaturados: contienen más de un doble enlace en la cadena hidrocarbonada. Los dobles enlaces no se encuentran en carbonos conjuntos (conjugados), sino separados por un grupo metileno. Dentro de este grupo se encuentran los denominados ácidos grasos esenciales, ácidos grasos omega (ω) que no pueden ser sintetizados por el hombre y deben ser incorporados a la dieta mediante el consumo de vegetales. En la figura 1.4 se muestra la estructura de ácidos grasos con igual número de átomos de carbono y diferente número de insaturaciones.

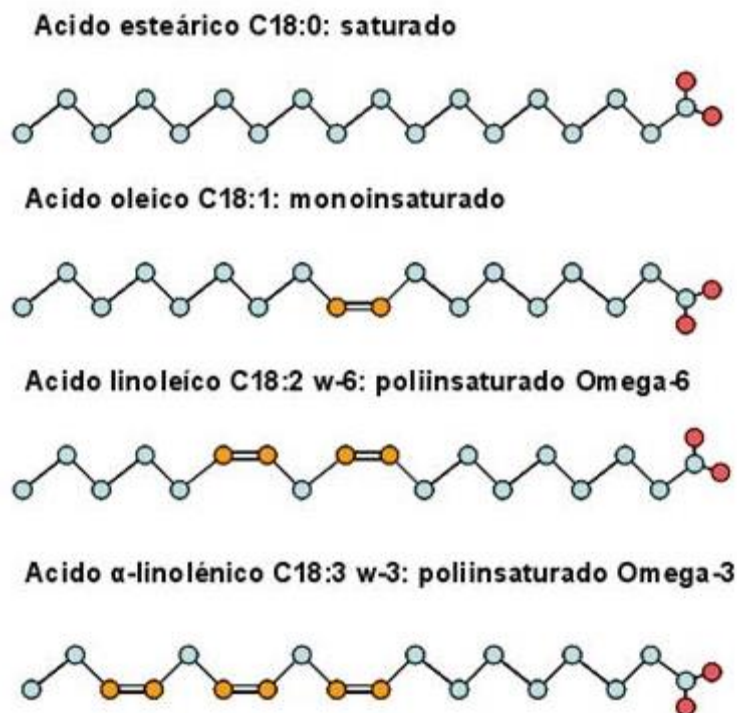


Figura 1.4. Estructura de ácido esteárico (saturado), oleico (monoinsaturado), linoleico (poliinsaturado ω -6) y linolénico (poliinsaturado ω -3) (Cano Muñoz, 2008).

Enlace *cis* y *trans*: la mayoría de los ácidos grasos de origen natural se presentan en configuración *cis*, es decir, los grupos $-H$ se encuentran en el mismo lado del doble enlace, tal y como puede verse en la figura 1.5. Los ácidos grasos *trans* están asociados al colesterol y se pueden encontrar en repostería industrial debido a la hidrogenación de las grasas. La configuración *cis* de los dobles enlaces produce una desviación rígida de la cadena hidrocarbonada.

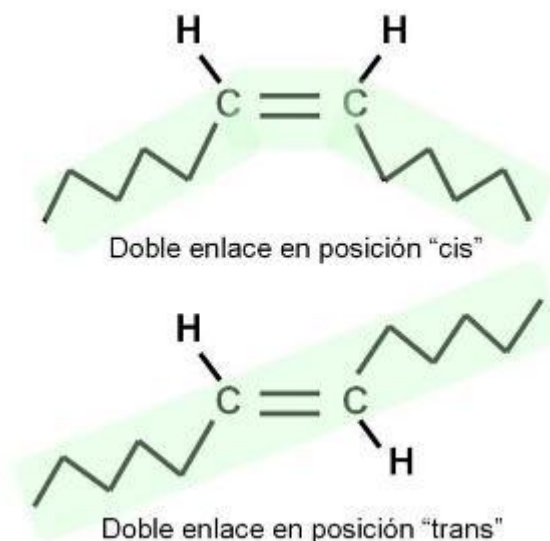


Figura 1.5. Estructura *cis* y *trans* de ácidos grasos insaturados. Imagen de <http://www.genomasur.com>.

1.4. Procesos de producción de biodiesel

Aunque los ésteres pueden obtenerse a partir de diferentes compuestos y usando diferentes técnicas (a partir de cloruros de ácido, anhídridos de ácido, sales de ácido y haluros de alquilo, etc.), el método más usado para obtener biodiesel es la transesterificación, que consiste en la reacción de triglicéridos con un alcohol dando lugar ésteres alquílicos y glicerina como subproducto.

La transesterificación está formada por tres reacciones consecutivas, con la presencia de intermedios de reacción (diglicéridos y monoglicéridos). En cada una de estas tres reacciones se libera un mol de éster alquílico.

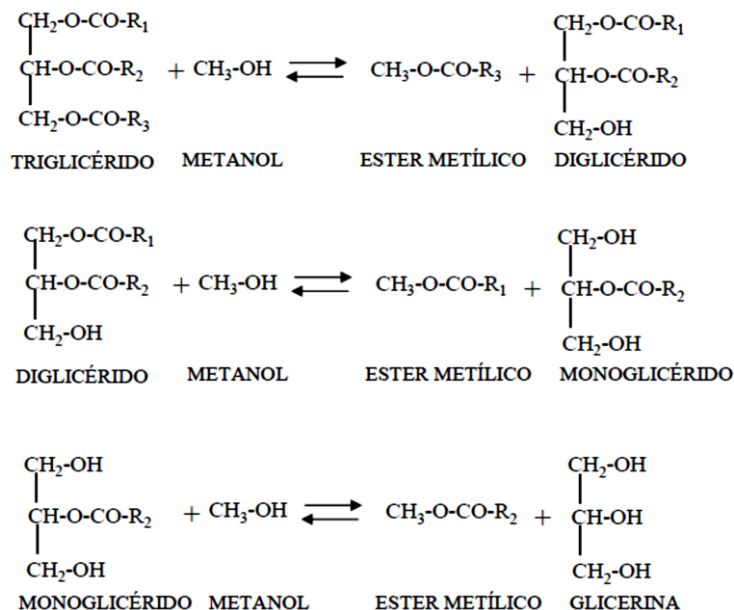


Figura 1.6. Esquema de reacción de transesterificación.

Viendo el balance global de la reacción mostrada en la Figura 1.6, se obtienen tres moléculas de éster y una molécula de glicerina. La reacción supone la transformación de moléculas de triglicérido en ésteres alquílicos de ácidos grasos, que son lineales, no ramificados y de menor tamaño, asemejándose a los componentes del diésel mineral. La transformación de monoglicéridos es la etapa más lenta del proceso, ya que son los compuestos más estables, como se observa en la figura 1.7 (Van Gerpen y Knothe, 2005).

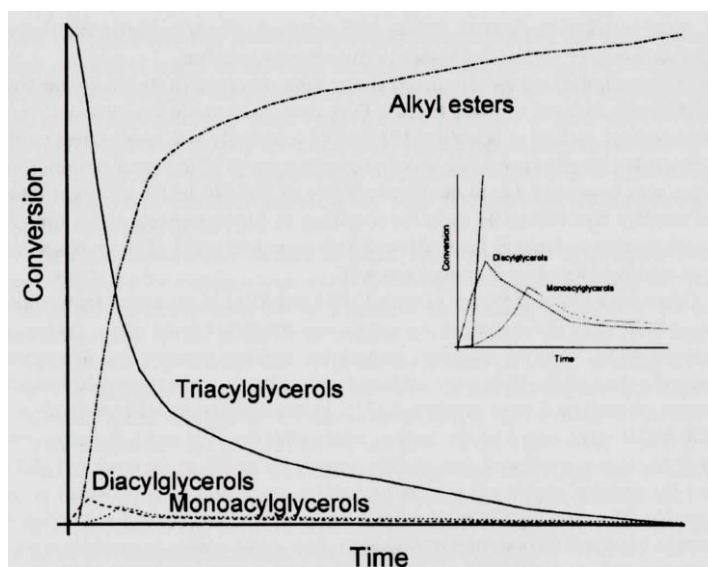


Figura 1.7. Evolución de la reacción de transesterificación. Concentración relativa de triglicéridos, di- y monoglicéridos (intermediarios) y ésteres metílicos. Imagen de Van Gerpen y Knothe, 2005.

La alcoholólisis (transesterificación de aceites y grasas con alcoholes) se realiza con alcoholes de bajo peso molecular (entre 1 y 5 átomos de carbono), principalmente con metanol (denominándose metanolólisis). Sin embargo, en Brasil se lleva a cabo con etanol, ya que es más barato y se obtiene de fuentes renovables, por lo que se usan ésteres etílicos de ácidos grasos como combustible.

Los triglicéridos y el metanol son inmiscibles. Por este motivo, en las primeras fases de la reacción, la transferencia de masa es la etapa controlante en la cinética de la reacción y se observa un sistema formado por dos fases. Cuando aparecen los ésteres, la etapa controlante es la reacción química, puesto que esta especie es miscible en el metanol. La aparición de cantidades importantes de glicerina, vuelve a provocar la aparición de dos fases, ya que los ésteres no son miscibles en la glicerina. A velocidades de agitación elevadas, la transferencia de masa deja de ser etapa controlante, y puede suponerse que la reacción química controla la velocidad de la reacción en todo el proceso.

La alcoholólisis es una reacción reversible, lo que hace necesario el uso de exceso de alcohol para desplazar el equilibrio hacia la formación de productos. En este sentido, la inmiscibilidad de la glicerina en los ésteres alquílicos favorece el desplazamiento del equilibrio hacia los productos.

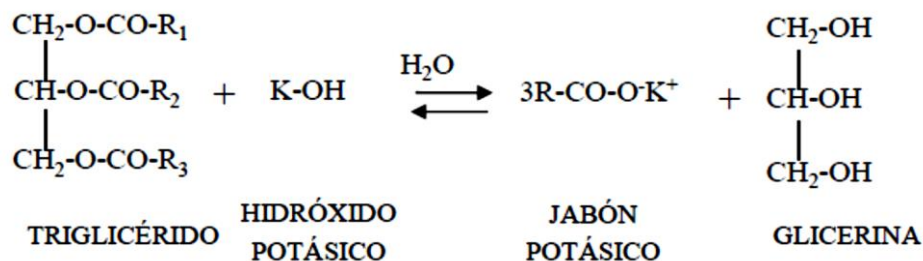
1.4.1. Transesterificación catalítica

La transesterificación puede estar catalizada por bases, ácidos o enzimas, y puede ser homogénea o heterogénea.

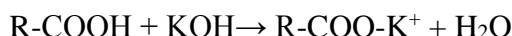
➤ CATÁLISIS HOMOGÉNEA BÁSICA

Se emplean bases fuertes, hidróxidos y alcóxidos de metales alcalinos, normalmente sodio y potasio. Son los más empleados a escala industrial, ya que presentan alta velocidad de reacción en condiciones de temperatura y presión moderada (Ma y Hanna, 1999).

El uso de catalizadores homogéneos básicos puede conllevar reacciones indeseables, como la formación de jabones por saponificación de triglicéridos o la neutralización de ácidos grasos libres presentes. El agua favorece estas reacciones, por lo que las materias primas empleadas deben estar exentas de humedad.



Reacción de saponificación de triglicéridos



Reacción de neutralización de ácidos grasos libres

El hidróxido potásico es más caro respecto al sódico, sin embargo, se ha justificado su uso mediante el aprovechamiento como fertilizante de la corriente de salida del proceso que contiene potasio. Los alcóxidos son más caros que los hidróxidos correspondientes, pero su uso evita la generación de agua en el proceso. La especie catalítica tanto en el caso del uso de hidróxidos o de alcóxidos es la misma, el ión metóxido CH_3O^- , por lo que presentan una misma efectividad y su uso responde básicamente a cuestiones económicas. El uso de catalizadores potásicos da lugar a mayores rendimientos, pero también a una mayor formación de jabones (Freedman et al., 1984).

➤ CATÁLISIS HOMOGÉNEA ÁCIDA

La alcoholísis puede también ser catalizada por ácidos fuertes, como el ácido sulfúrico, clorhídrico, fosfórico y sulfónico (Sanz et al., 2002). La reacción es más lenta que en el caso de la transesterificación básica, y su uso requiere condiciones menos moderadas para obtener conversiones aceptables (Demirbas, 2005). Con el uso de catalizadores ácidos, no se generan jabones, ya que los posibles ácidos grasos libres presenten se esterifican directamente a ésteres alquílicos. Por este motivo, son una alternativa al uso de catalizadores básicos cuando la materia prima de partida, grasa o aceite, tenga alto contenido de ácidos grasos libres. Sin embargo, el uso de ácidos concentrados puede dar lugar a la descomposición de compuestos orgánicos y a dificultades en etapas posteriores de purificación.

Para poder realizar una transesterificación básica con materias primas que tengan presencia importante de ácidos grasos libres (superior al 1-2 % m/m) se realiza habitualmente una

esterificación ácida previa, donde los ácidos grasos libres son convertidos a ésteres, y parte de los triglicéridos también son esterificados (Aranda et al., 2008; Berchmans e Hirata, 2008).

En general, la catálisis homogénea presenta serias desventajas. Los catalizadores se disuelven en la glicerina y no pueden ser regenerados para su reutilización. Además, la glicerina resultante tiene compuestos inorgánicos, lo que hace que se dificulte su purificación.

➤ CATÁLISIS HETEROGÉNEA BÁSICA

Los catalizadores sólidos permiten una mejor separación de los productos de reacción y la reutilización del catalizador. Sin embargo, sólo algunos han llegado a ser empleados a escala industrial. La mayoría requieren condiciones de operación más severas: elevadas temperaturas y presiones, lo que encarece el proceso.

Los óxidos metálicos son el grupo de catalizadores más estudiados. Los centros básicos de los óxidos de metales alcalinotérreos (MgO, CaO, SrO y BaO) se generan por el ión metálico que posee acidez Lewis, mientras que el O^{2-} genera los centros Brønsted. El CaO es uno de los más estudiados, obteniendo conversiones elevadas en condiciones de operación moderadas. Además, hay numerosos materiales de desecho que pueden aprovecharse para obtener este CaO, como las cáscaras de huevo o conchas de moluscos (Borges y Díaz, 2012). Por un lado, la solubilidad del CaO hasta cierto punto es la responsable de su contribución catalítica homogénea, aunque esta parece ser mínima comparada con la contribución heterogénea de los sitios activos del sólido. Sin embargo, esta solubilidad provoca que exista lixiviación del calcio hacia el producto de reacción, lo que requiere posterior purificación (López Granados et al., 2009).

Se ha probado la efectividad de hidróxidos de metales alcalinos: hidróxidos de Li, Cs y Rb presentan similares resultados que los obtenidos con Na y K (Arzamendi et al., 2008). Sin embargo, en el caso del Litio se observa un periodo de inducción en los primeros 60 minutos de reacción, aunque a los 90 minutos, la conversión obtenida con todos los hidróxidos era similar (~90%). Los resultados publicados aparecen en la figura 1.8.

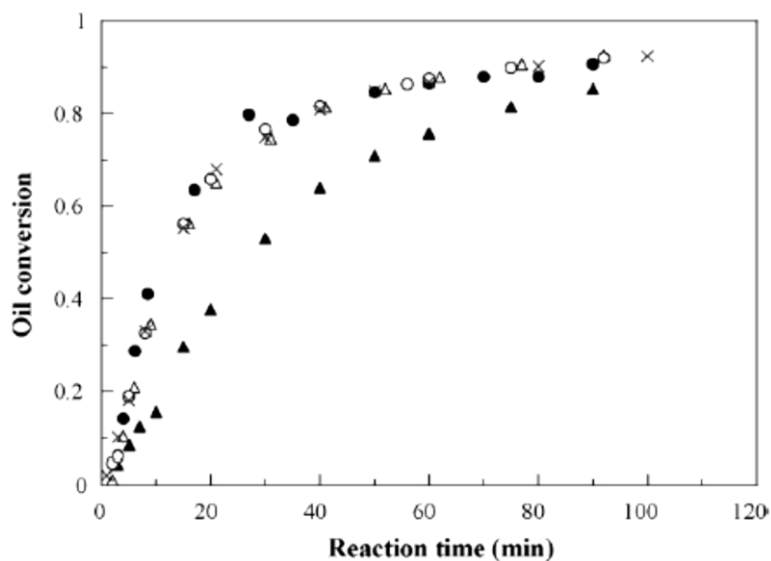


Figura 1.8. Conversión de aceite de girasol en la metanolisis con hidróxidos de metales alcalinos. 323 K y ratio metanol: aceite de 12:1. Catalizadores: ▲LiOH, △ NaOH, ● KOH, ○ RbOH y x CsOH, en concentraciones equivalentes a 0.1% NaOH (Arzamendi et al., 2008).

Las hidrotalcitas son compuestos inorgánicos, formados por láminas cargadas positivamente, compensadas por aniones. Tienen alta área superficial, basicidad y alta estabilidad (Barakos et al., 2008). Otro ejemplo de catalizadores básicos heterogéneos son mezclas de óxidos. CaMgO y CaZnO han sido empleados y comparados con la actividad catalítica de CaO. Las conversiones alcanzadas fueron similares, y tras 6 ciclos de uso aun se conseguían valores en torno al 80% (Taufiq-Yap et al., 2011).

➤ CATÁLISIS HETEROGÉNEA ÁCIDA

Las zeolitas son un tipo de aluminosilicatos cristalinos, de fórmula general $M_{x/n}[(AlO_2)_x(SiO_2)_y] \cdot mH_2O$. Los cationes M neutralizan la carga negativa del esqueleto aluminosilicato. Tienen una elevada área superficial interna aunque en las reacciones de transesterificación su actividad es baja. Este hecho se debe principalmente a la limitación de la difusión de los triglicéridos, que son reactivos voluminosos, en la estructura microporosa de la zeolita (Kiss et al., 2006). Este tamaño de poro puede aumentarse con una mayor relación Si/Al, sin embargo, se pierde fuerza ácida. Los sólidos mesoporosos poseen un tamaño de poro adecuado y mantienen a su vez una estructura con elevada superficie de adsorción y selectividad.

Los heteropoliácidos (HPAs) son ácidos complejos, formados por heteropolianiones que tienen como unidad básica octaedros metal-oxígeno (Castellar et al., 2014). Presentan facilidad en el manejo, aunque su solubilidad en medios polares, como el agua o el metanol, hacen que en la metanolisis de aceites y grasas actúen como catalizadores homogéneos. En este sentido, algunos HPAs han demostrado elevada eficiencia una vez han sido soportados sobre arcilla ácida.

Los óxidos metálicos empleados en la catálisis ácida están compuestos por metales tales como Zr, Ti o Sn. Se ha probado la actividad de óxidos sulfatados, como la zirconia sulfatada ($\text{SO}_4^{2-}/\text{ZrO}_2$) o el óxido de estaño sulfatado ($\text{SO}_4^{2-}/\text{SnO}_2$). Estos catalizadores presentan centros ácidos Brønsted y Lewis.

➤ CATÁLISIS ENZIMÁTICA

Se emplean las lipasas como catalizadores de la hidrólisis de los lípidos. Las lipasas son también enzimas que catalizan la síntesis de glicéridos y monoésteres. Permiten conversiones elevadas en condiciones de operación moderadas (pH, presión y temperatura) y no requieren la posterior purificación de los ésteres metílicos o de la glicerina. Sin embargo, su elevado precio es aún una limitación a su implementación a gran escala. Otra de las desventajas es el efecto inhibitor del metanol. Los centros activos de las lipasas aceptan el metanol como sustrato, perdiendo así su actividad catalítica, aunque la adición de metanol por etapas ha demostrado aumentar la durabilidad del biocatalizador. También la glicerina puede acumularse en la enzima y provocar su desactivación. Añadiendo sílice al medio puede minimizarse esta desactivación, puesto que la glicerina se adsorbe a la sílice (Gog et al., 2012).

La actividad de las lipasas se ve también reducida por la presencia de agua. La presencia de solventes orgánicos (hexano, éter de petróleo, ciclohexano, isooctano, etc. entre otros) resulta en mayores conversiones, sin embargo, hace necesaria etapas posteriores de purificación para eliminar este solvente de los productos de reacción.

Las lipasas pueden ser aisladas de fuentes animales, vegetales o de microorganismos. Las más estudiadas han sido las derivadas de bacterias y hongos: *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oryzae*, *Candida Antarctica*, and *Pseudomonas cepacia*. Las enzimas pueden filtrarse tras su uso para volver a ser utilizadas en un nuevo ciclo. Sin embargo, para reacciones a mayor

escala, se investigan métodos de inmovilizado, como la adsorción, encapsulación, entrecruzado (cross-linking), etc.

En general, las condiciones de operación son suaves pero los tiempos de reacción necesarios para conseguir elevadas conversiones son altos.

1.4.2. Transesterificación no catalizada

En condiciones supercríticas, la mezcla de reacción se convierte en una fase homogénea, debido a los bajos valores de la constante dieléctrica del alcohol. Al no existir interfase de transferencia de materia, la reacción de transesterificación puede darse en ausencia de catalizador, y además en un tiempo muy bajo. En condiciones supercríticas se pueden convertir materias con elevado contenido en ácidos grasos libres (de hecho, puesto que la esterificación de los ácidos grasos libres es más rápida que la transesterificación de los triglicéridos, todos los ácidos grasos son convertidos en ésteres alquílicos), no requiere posterior separación del catalizador (puesto que no se emplea) y se toleran valores altos de humedad, siendo además más fácil la separación al final del proceso supercrítico si hay agua. Sin embargo, se requieren elevados ratios de metanol respecto al aceite y elevadas presiones y temperaturas para alcanzar las condiciones supercríticas (Marchetti y Errazu, 2008). El punto crítico del metanol se encuentra a 239°C y 8.03 MPa, para el etanol 243°C y 6.4 MPa y para el propanol 264°C y 5.1 MPa.

Para trabajar en condiciones algo menos severas, se ha estudiado también el uso de cosolventes. Se permite de esta manera trabajar a menores presiones y reducir la relación molar alcohol/aceite. El compuesto empleado como cosolvente debe ser más volátil que el alcohol empleado en la transesterificación (de manera que el punto crítico de la mezcla binaria alcohol/cosolvente disminuya) así como de bajo costo y amplia disponibilidad. El dióxido de carbono o el propano han sido utilizados como cosolventes mostrando elevadas conversiones mientras se reduce la severidad de las condiciones (Cao et al., 2005; Zin et al., 2008).

1.4.3. Transesterificación asistida por ultrasonidos

Los ultrasonidos se definen como ondas de sonido con una frecuencia superior a la frecuencia detectable por el oído humano, normalmente por encima de los 20 kHz. Estas

ondas hacen vibrar a las moléculas y crean cavidades. Se forman pequeñas burbujas en la interfase alcohol-aceite, y se produce una mezcla intensiva en dicha interfase. Cuanto mayor es la frecuencia de ultrasonidos empleada, las burbujas son de menor tamaño y mejor la mezcla. Además, se produce un aumento de temperatura en el límite de fase, sin necesidad de agitación ni calefacción, ya que proporciona energía suficiente para iniciar la reacción. Se ha empleado esta técnica con catalizadores básicos y ácidos, y se ha reducido considerablemente el tiempo de reacción si se compara con reacciones agitadas mecánicamente (Fan et al., 2010).

1.4.4. Transesterificación asistida por microondas

La irradiación microondas es una radiación electromagnética en el rango de longitudes de onda entre 0.01 y 1 m, y con una frecuencia en el rango 0.3-300 GHz. El calor generado por la fricción molecular aumenta la velocidad de reacción. En un principio sólo se empleaban catalizadores básicos homogéneos para estudiar la transesterificación asistida por microondas, pero recientemente se está investigando también su uso con enzimas y catalizadores heterogéneos.

1.4.5. Transesterificación en reactores de membrana

Pueden diferenciarse dos procesos diferentes en el uso de la tecnología de membranas: la separación basada en el tamaño de gota, que requiere membranas cerámicas microporosas y la separación basada en membranas catalíticas, que funcionan con una membrana polimérica no porosa (Dubé et al., 2007). En el primer caso, la membrana actúa como una barrera selectiva y la reacción se produce en una emulsión donde los triglicéridos se encuentran continuamente separados de los ésteres. Así se obtiene un biodiesel de elevada calidad. En el caso de las membranas catalíticas, el glicerol y el metanol forman enlaces de hidrógeno con los grupos OH de la membrana polimérica, y están continuamente separados de la mezcla de reacción.

1.5. Operaciones de purificación de biodiesel

Una vez realizada la transesterificación, es necesario realizar algunas operaciones para el aislamiento y separación de los ésteres metílicos. Debe llevarse a cabo la separación de las

dos fases formadas: fase principalmente formada por ésteres metílicos de ácidos grasos y fase formada por glicerol. La diferencia de densidades entre ambas y la baja solubilidad de la glicerina en los ésteres metílicos facilita la separación. El metanol estará presente en ambas fases y su presencia puede favorecer la solubilidad del glicerol en la fase éster. Sin embargo, su presencia también impide la posible glicerólisis de los ésteres. Además, el metanol y el agua presentes hacen variar la densidad de la fase glicerina, con lo que la diferencia de densidades entre ambas fases se hace menor y se dificulta la separación.

A baja escala, la separación puede llevarse de una manera eficiente por sedimentación, mientras que en el caso de procesos continuos que operan a escala industrial dicha separación se realiza mediante el uso de centrífugas de discos.

Una vez realizada la separación, la fase éster contiene impurezas, que deben ser eliminadas para asegurar un correcto funcionamiento como combustible. Además de contener metanol, catalizador, tri-, di-, y monoglicéridos no convertidos, pueden haberse formado jabones debido al uso de catalizadores básicos y a la presencia de ácidos grasos libres.

Los procesos de eliminación de estos compuestos pueden dividirse en *lavado húmedo* y *lavado seco*.

1.5.1. Lavado húmedo

Es uno de los métodos más empleados para la purificación de biodiesel. Emplea agua como agente de lavado y requiere posterior agitación de la mezcla. Debido a la elevada solubilidad del metanol y la glicerina en agua, el contenido de estos compuestos es fácilmente minimizado mediante este procedimiento.

➤ LAVADO CON AGUA O AGUA LIGERAMENTE ACIDIFICADA.

El lavado se realiza añadiendo agua desionizada al biodiesel crudo y agitando la mezcla. Es un método eficiente, sin embargo, la cantidad de agua requerida varía enormemente de un estudio a otro. Mientras Balat y Balat (Balat y Balat, 2010), usaron un 5.5% respecto al volumen de biodiesel, Coelhô et al. emplearon un 25% (másico). En este último estudio, se investigó la influencia del pH (valores de 2 y 5) temperatura (30 y 70°C). Si bien la temperatura del agua de lavado no parecía influir significativamente en la eliminación de contaminantes, la cantidad de agua requerida disminuía al emplear valores bajos de pH (Coelhô et al., 2011).

Para disminuir el pH del agua, se emplean varios ácidos: ácido fosfórico, sulfúrico, clorhídrico, cítrico, tartárico, etc.

El lavado con agua es efectivo para la eliminación de metanol, glicerina y jabones. Sin embargo, la concentración de acilglicéridos (no convertidos en la transesterificación) no se ve afectada. Por este motivo, para minimizar su contenido y asegurar el cumplimiento especificado por la norma correspondiente, debe asegurarse un rendimiento de la reacción elevado.

La agitación en la operación de lavado es otro parámetro importante, aunque se encuentra poca bibliografía al respecto. La agitación debe asegurar el contacto entre el biodiesel y el agente de lavado, pero si es demasiado elevada, puede llevar a la formación de emulsiones. Estas emulsiones dificultan la posterior separación de las fases, y provoca pérdidas de ésteres metílicos, que pueden suponer hasta un 28% (Saifuddin y Chua, 2004).

➤ LAVADO CON AGUA Y DISOLVENTES ORGÁNICOS

El uso de disolventes orgánicos para la purificación del biodiesel crudo no está muy extendido, y los estudios existentes se reducen principalmente al uso de éter de petróleo (Siler-Marinkovic y Tomasevic, 1998; Wang et al., 2009). Después del lavado con disolvente orgánico, el biodiesel debe ser aun lavado entre 3 y 4 veces con agua (Siler-Marinkovic y Tomasevic, 1998; Fangrui et al., 1998; Tomasevic y Siler-Marinkovic, 2003).

Si se emplea agua para la purificación del biodiesel, esta debe ser posteriormente eliminada. Para ello, puede realizarse un secado empleando sulfato sódico anhidro (Na_2SO_4) o llevarse a cabo una destilación a vacío moderado (Haas et al., 2006).

El lavado con agua es un proceso eficaz y tecnológicamente sencillo. Sin embargo, se generan efluentes en el proceso que deben ser tratados adecuadamente antes de su vertido (en particular el pH y el contenido en metanol). La utilización de agua en las operaciones de lavado es elevada, sobre todo en plantas productoras de escala pequeña y mediana, ya que las plantas que operan a gran escala cuentan con instalaciones que permiten la recuperación de la mayor parte del agua utilizada.

1.5.2. Lavado seco

Las operaciones de purificación en seco surgen de la necesidad de reducir el consumo de agua en el proceso, y con ello la generación de efluentes que requieren tratamiento. Pueden clasificarse a su vez en 4 tipos de operaciones:

➤ ADSORCIÓN

Se han estudiado diferentes materiales adsorbentes para la purificación del biodiesel. Estos materiales tienen elevada afinidad por compuestos polares, como el metanol, glicerina y glicéridos, metales y jabones. El gel de sílice tiene una elevada capacidad de adsorción de glicerina (0.13 g/g) y su uso resulta en bajas pérdidas de biodiesel (Dmytryshyn et al., 2004; Yori et al., 2007; Özgül-Yücel y Türkay, 2003). El uso de tierras activadas en una relación de 10:1 respecto al biodiesel también lleva a un producto que cumple con los estándares requeridos por la ASTM (Solval y Sathivel, 2012).

Existen varios materiales adsorbentes comercializados, entre los que destaca en Magnesol. Es un silicato de magnesio, que se emplea en cantidades entre 1.5 y 3% respecto a la masa de biodiesel. El material adsorbente, en forma de polvo, se mezcla con el biodiesel y se somete a agitación. Después es necesario filtrar para separar el sólido, que no puede ser regenerado pero no presenta toxicidad.

➤ INTERCAMBIO IÓNICO

Mediante el uso de las resinas de intercambio iónico tienen lugar 4 procesos diferentes. Uno de ellos es la filtración; parece que la resina puede actuar como filtro si los jabones y la glicerina están libres de metanol, lo que provoca su precipitación. Otra hipótesis es que el mecanismo responsable de la eliminación de los jabones sea el intercambio iónico. La resina intercambia un ión hidrógeno con el ión metálico (sodio o potasio) en disolución. Este proceso genera la liberación de un ácido graso libre, que estaba asociado al ión metálico formando el jabón, lo que podría generar un valor de acidez del biodiesel elevado si el contenido inicial de jabones era alto. Otro mecanismo de actuación podría ser mediante adsorción de compuestos polares en la resina. Este es probablemente el mecanismo responsable de la eliminación de la glicerina; la glicerina ha demostrado elevada afinidad por las resinas sulfonatadas (Chen et al., 2012). Esta afinidad es efectiva también para la

eliminación de jabones, que al ser solubles en la glicerina, quedarían también retenidos de esta forma.

➤ PURIFICACIÓN CON MEMBRANAS

Las membranas pueden estar formadas por materiales orgánicos o inorgánicos, Las inorgánicas (especialmente cerámicas) presentan mayor resistencia térmica, mecánica y química, pero resultan más caras que las orgánicas. La purificación con membranas es muy eficaz y no implica el uso de agua ni de material adsorbente, sin embargo tiene un coste elevado y hasta el momento no existen tecnologías que permitan su uso en plantas de producción a escala industrial.

1.6. Producción y mercado de biodiesel

Desde el año 2000, la producción mundial de biodiesel ha crecido de manera muy significativa. Especialmente entre los años 2008 y 2012, esta cifra ha aumentado en un 65%. La Unión Europea lidera la producción de biodiesel, especialmente por la contribución de países como Alemania y Francia. Hasta el año 2012, Alemania era el primer país productor de biodiesel. En el año 2013, fue superado por Estados Unidos, cuya aportación a la producción mundial de biodiesel pasó del 14.5% en 2012 al 17%. Brasil y Argentina ocupan el tercer y cuarto puesto (REN21, 2014). En la figura 1.9 se muestra la evolución de la producción mundial de biodiesel por regiones desde el año 2000.

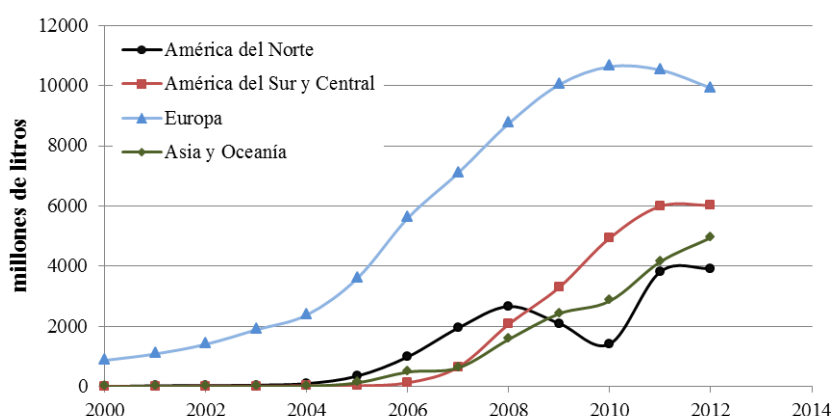


Figura 1.9. Evolución de la producción mundial de biodiesel por regiones. Figura adaptada de www.eia.gov.

1.6.1. Unión Europea

La Unión Europea es el mayor productor de biodiesel, el cual representa el 80% de la totalidad de biocarburantes empleados para el transporte. La colza (Canola) es la materia prima más empleada en la Unión Europea, siendo un 58% de la producción total de biodiesel en 2013. Este porcentaje cayó en relación al año anterior, debido al uso de aceite de palma y aceite usado de fritura. El aceite de palma se emplea en países como España, Alemania, Italia y Finlandia, debido al menor precio de este aceite.

En el año 2013, la Unión Europea importó 1.5 millones de toneladas de aceite vegetal, en su mayoría derivado de palma, soja y de colza, en menor medida.

El consumo de biodiesel se incrementó hasta el año 2011, debido a la inclusión de cuotas obligatorias que establecían el porcentaje mínimo de biodiesel en diésel. A partir de ese año, el consumo descendió debido a la reducción de estas cuotas y quizá también a la doble contabilidad otorgada por la Unión Europea a los biocarburantes de segunda generación. Además, en 2009, la comisión europea impone medidas arancelarias diferenciales a las importaciones de biodiesel proveniente de Estados Unidos.

En 2012, la importación de biodiesel de soja y palma, procedentes de Argentina e Indonesia, respectivamente, llegó a las 2 millones de toneladas. A finales de 2013, se impusieron aranceles punitivos a su importación, ya que en esos países las empresas productoras de biodiesel reciben ayudas por lo que pueden vender por debajo del precio de coste. Estas medidas anti-dumping hacen disminuir la importación de biodiesel por parte de la UE en un 57%. Las importaciones comenzaron a aumentar de nuevo, en este caso de países sin restricciones arancelarias, como Malasia o Brasil.

En Mayo de 2003 se aprueba la Directiva 2003/30/CE del Parlamento Europeo, relativa al fomento del uso de biocarburantes u otros combustibles renovables en el transporte. Esta directiva fomenta la inclusión de carburantes de origen renovable en proporciones de 2% para el año 2005 y del 5.75% para el año 2010, mediante el uso de beneficios fiscales. En España, el Real Decreto 1700/2003 del 15 de diciembre traspone dicha Directiva.

Las ayudas a la producción se realizan mediante la aplicación de incentivos de tipo fiscal. En España, la Ley 53/2002 estableció un tipo impositivo cero para los biocarburantes y la Directiva 2003/96/CE permitía a los Estados Miembros la aplicación de dichas exenciones.

Mediante la Directiva 2009/28/CE se aprobó para el año 2020 un porcentaje mínimo de un 10% de combustibles de transporte procedentes de energías renovables. Esta cifra reemplazó

la Directiva 2003/30/CE, que establecía un 5.75% para el año 2010 y un 10% para el año 2020. Ese mismo año, era necesario que los estados miembros elaboraran un Plan Nacional de Energías Renovables, donde se detallaran las estrategias destinadas a alcanzar dicha cuota. Además de los nuevos requisitos, se establecieron criterios de sostenibilidad, como los referidos al cambio de uso de suelo, o a una cantidad mínima de reducción de emisiones de gas de efecto invernadero (Olivetti et al., 2014).

En 2011, algunos estados aumentaron las cuotas nacionales de biodiesel. En España, el Gobierno eleva el porcentaje de mezcla desde el 5.75% hasta el 7% (RD 1738/2010). Sin embargo, en el año 2013 el Real Decreto RDL 4/2013 disminuye para el año 2014 el objetivo obligatorio de biocarburantes en combustibles de automoción desde el 6.5 al 4.1%. Esto supuso una reducción del objetivo específico de biodiesel en gasóleos desde el 7 hasta el 4.1%. El resto de países de la Unión Europea tienen también sus requisitos propios: Francia mantiene el 7,7%, Alemania fija un 4.4%, Suecia un 8.048%, etc. En el Plan Nacional de Energías Renovables presentado en 2011, la tasa estimada para 2014 en España debía suponer un 8%.

Los principales productores de biodiesel en Europa son, por orden decreciente, Alemania, Francia, España, Italia y Polonia.

En los últimos años, la producción ha aumentado especialmente en Francia, Benelux (Países Bajos, Bélgica y Luxemburgo), Alemania y Reino Unido. La razón principal es que ya existían bien establecidas industrias de manejo y molienda de grano (ADM, Bunge, Cargill) que han instalado plantas de biodiesel próximas a sus instalaciones. Los puertos como Antwerpen (Bélgica), Rotterdam (Países Bajos) o Hamburgo (Alemania) han colocado a estos países en polos estratégicos para el mercado de biodiesel, aunque principalmente son la puerta de entrada de biodiesel proveniente de fuera de las fronteras europeas.

En la figura 1.10 se muestran los datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel de la Unión Europea.

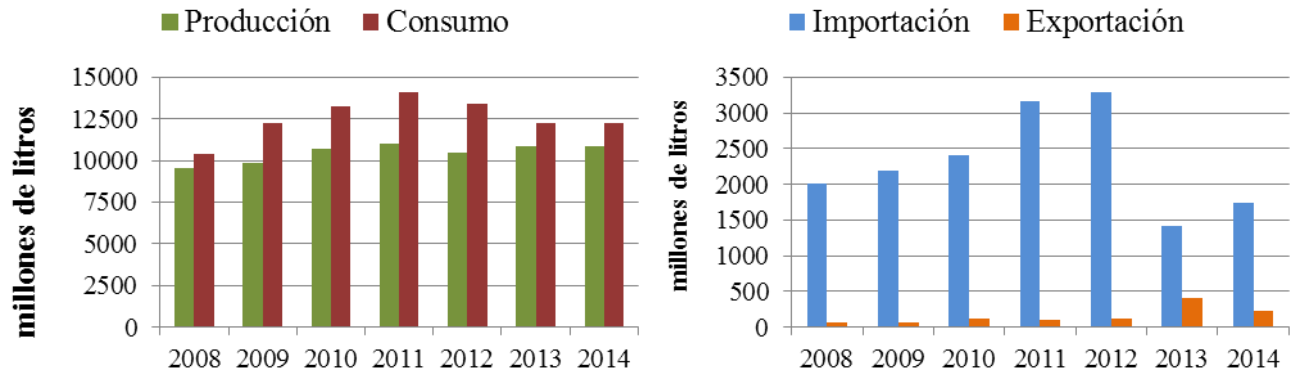


Figura 1.10. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en la Unión Europea.

1.6.2. Estados Unidos

La producción de biodiesel en Estados Unidos no ha parado de crecer desde el año 2002. Gran causa de este despegue fueron los subsidios federales y el acceso a financiación a tasas muy atractivas. Sin embargo, la cancelación de dichos subsidios para biodiesel exportado en 2008, dio lugar a una caída de producción en un 63%. En 2007, Estados Unidos fue un exportador neto de biodiesel. Importaba aceite de Argentina y en menor medida de Malasia e Indonesia, y exportaba el biodiesel a Europa. La tasa aplicada por la Unión Europea para gravar las importaciones de biodiesel proveniente de Estados Unidos provocó un brusco descenso en las exportaciones. La producción volvió a subir y sufrió una nueva caída, provocada por la decisión final del poder legislativo de Estados Unidos de no extender los beneficios del subsidio al año 2010.

Desde este momento hasta la actualidad, la producción y el consumo de biodiesel en Estados Unidos ha aumentado, tal y como puede verse en la figura 1.11. En 2010 se aprobó el Renewable fuel Standard (RFS2, ya que el RSF1 data del 2005) donde se incrementaba el volumen de biocombustibles que debían ser usados para transporte cada año. En el caso del biodiesel, se establecieron cuotas que pasaban de 1.9 millones de m³ en 2009 hasta 2.5 en 2010 y 3.8 en 2012 (USDA GAIN, 2014b).

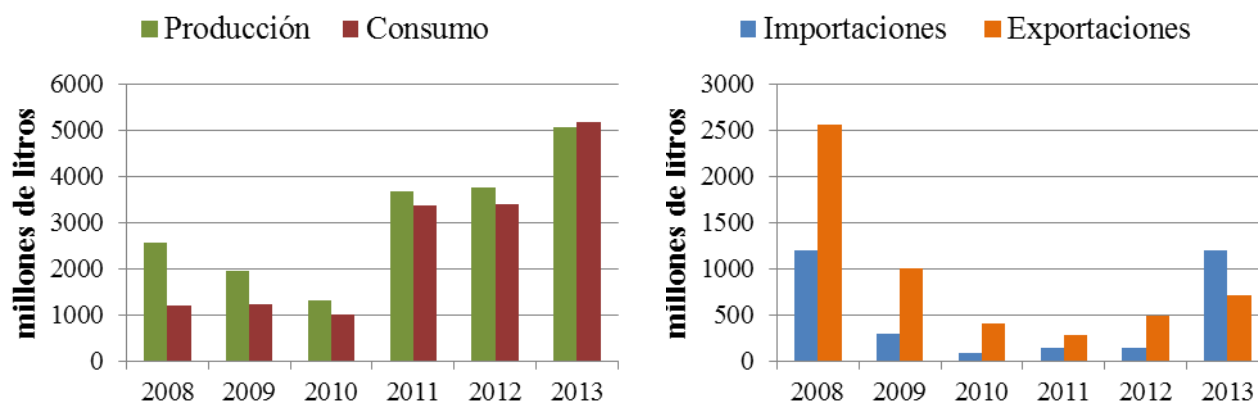


Figura 1.11. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en Estados Unidos.

La soja es la materia prima más usada para producir biodiesel en Estados Unidos. Ha supuesto más de 50% del total de las materias primas desde el año 2000. El aceite de colza (canola) supone la segunda materia prima más empleada (10-12%). El aceite de maíz y la denominada yellow grass han ocupado el tercer y cuarto puesto en este rango en el año 2012.

1.6.3. Canadá

La mayoría del biodiesel producido en Canadá es exportado a los Estados Unidos. El porcentaje de mezcla obligado desde el 2011 es del 2%. Hasta ese año, algunas provincias tenían establecido un porcentaje obligatorio, pero no ocurría a nivel estatal. La materia prima más empleada es la colza (canola), pero también tienen importancia la grasa de origen animal (sebo de vacuno), aceites reciclados, el aceite de palma (importado) y el aceite de soja. Sin embargo, la colza y soja están en mercados alimentarios, por lo que su precio es mucho menos competitivo que el aceite de palma o las grasas de origen animal. Además, la elevada demanda mundial de aceite de colza ha provocado un aumento de precio tal que limita el futuro desarrollo de la industria del biodiesel en Canadá (USDA GAIN, 2014c).

El mercado de biodiesel en Canadá es relativamente nuevo si se compara con el de Estados Unidos o el de la Unión Europea. Una fracción del aceite de colza producida en Canadá, es exportada a Estados Unidos donde es convertida en biodiesel y de nuevo importada por Canadá para cumplir con el requerimiento de mezcla. La evolución de la producción, consumo, importación y exportación de biodiesel puede observarse en la figura 1.12.

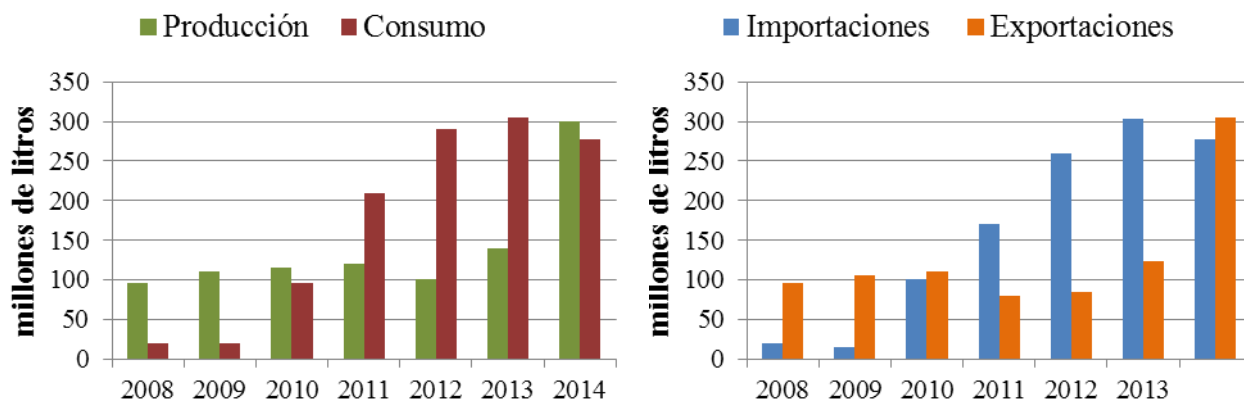


Figura 1.12. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en Canadá.

1.6.4. Sudamérica

Brasil comenzó el programa para la obtención de etanol a partir de azúcar de caña en 1975 y en el año 2007 el etanol ya reemplazaba el 50% en volumen de gasolina. En 2004, lanzó otro programa similar para impulsar la producción y el consumo de biodiesel. En 2005 se establecieron unas cantidades mínimas de biodiesel en gasóleo del 2% en 2006, 3% en 2010 y 5% en 2013. En 2010, ya se alcanzó la tasa del 5% (ANP, 2014).

Además de establecer unas cuotas mínimas de biodiesel, se reguló la exención de tasas si el biodiesel era producido a partir de aceite de palma o ricino (31% de exención), si se producían en explotaciones familiares y a pequeña escala (68%) o si se daba una combinación de las dos anteriores (100%). La soja quedaba fuera de estas exenciones. Aun así, la soja es la materia prima más empleada en la producción de biodiesel. El cultivo de la soja era un mercado muy implantado en Brasil, siendo en 2006 el 90% del aceite vegetal que se producía. El uso de grasa de vacuno aumentó en 2007 debido al elevado precio del aceite de soja. La mayoría de plantas de biodiesel en Brasil están basadas en transesterificación con metanol y presencia de catalizador básico homogéneo.

Al contrario de lo que ocurre con el etanol, producto del cual Brasil es un gran exportador, la producción de biodiesel es para consumo doméstico.

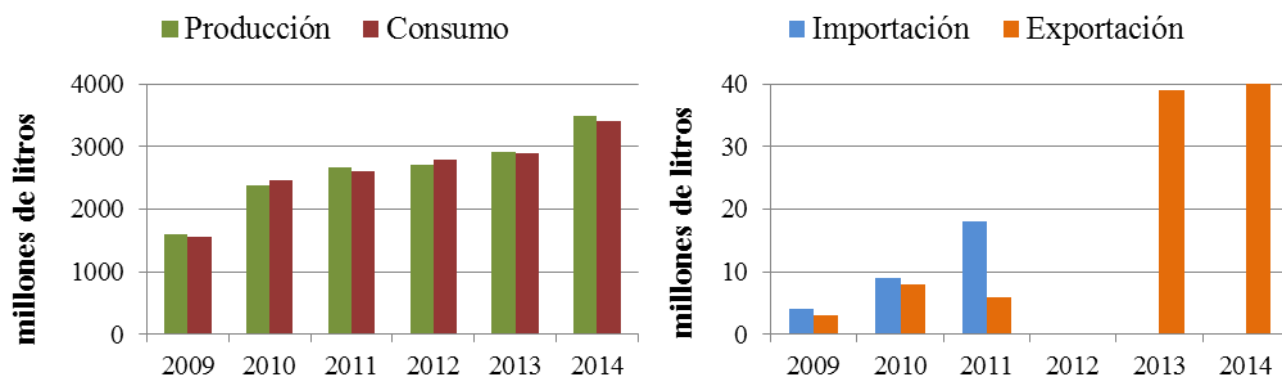


Figura 1.13. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en Brasil.

Argentina se centró desde un principio en las exportaciones de biodiesel más que en consumo doméstico. Se impulsó a base de políticas que incluían ventajas tanto para la producción como para la exportación de soja comparada con otros aceites vegetales. El destino de las exportaciones es principalmente Europa, aunque a veces vía Estados Unidos (USDA GAIN, 2014d). Aunque en 2010 se implementaron políticas para fomentar el uso doméstico, las grandes cantidades producidas hacen que la exportación siga siendo el destino principal del biodiesel. Para evitar el aumento de precio de alimentos, las tasas asociadas a la exportación de biodiesel son un 18.5% menores que para la exportación del aceite de soja. En un principio se estableció un 5% de biodiesel obligatorio en consumo local, cifra que se aumentó hasta un 7%.

En los años 80 se comenzó a desarrollar una cadena productiva soja-harinas-aceite de soja. Con dicha base, no es de extrañar que la misma cadena se expandiera para la obtención de soja como materia prima de biodiesel. En las regiones productoras de soja es donde se encuentran concentradas la mayoría de las plantas de biodiesel. Desde el año 2009 y hasta el 2012, Argentina ocupó el primer puesto de producción mundial de biodiesel a base de aceite de soja. En 2013 quedó en segundo puesto, siendo adelantado por Estados Unidos. Si se habla de biodiesel obtenido a base de cualquier materia prima, Argentina ocupaba el tercer puesto por detrás de los Estados Unidos y Alemania, hasta el 2013, donde cayó al quinto puesto por detrás también de Indonesia y Brasil. La caída en el 2013 se atribuye a las medidas antidumping impuestas por la Unión Europea a las exportaciones argentina de biodiesel, al incremento de las tasas a la exportación impuestas por el mismo gobierno estatal y a la reducción del precio pagado en el mercado interno. En este periodo, las exportaciones de aceite de soja aumentaron notablemente, pasando de 500 a 1540 miles de toneladas del primer al segundo trimestres del 2013.

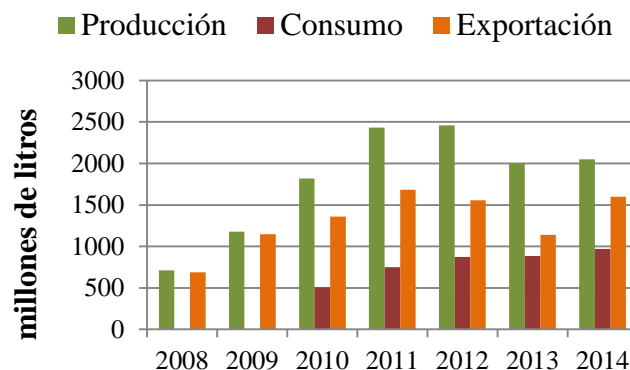


Figura 1.14. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en Argentina.

1.6.5. Sudeste asiático: Indonesia, Malasia y Tailandia

La mayoría de los países del este asiático son importadores de petróleo. Recientemente, los gobiernos han establecido políticas para favorecer la producción e inclusión de los biocombustibles como sustitutos de combustibles fósiles. Algunos han fijado tasas mínimas de biodiesel para mezclar con gasóleo (5% en Malasia y Tailandia, 10% en el caso de Indonesia) (USDA GAIN, 2014e; USDA GAIN, 2014f; USDA GAIN, 2014g). La producción de biodiesel en Malasia e Indonesia está fuertemente orientada a la exportación. Las exportaciones de biodiesel de Indonesia aumentaron en un 117% entre los años 2010 y 2011. En el caso de Tailandia, se reduce a consumo doméstico, ya que hay políticas que no favorecen su exportación. Aunque no haya importación ni exportación de biodiesel, Tailandia sí es un país exportador de aceite de palma (USDA GAIN, 2014f). En los tres países, el aceite de palma es la materia prima mayoritaria en la producción de biodiesel. Entre el 80 y 85% de la producción mundial de aceite de palma se da en Indonesia y Malasia, y la gran mayoría es exportada al resto del mundo para su uso en alimentación. Las elevadas temperaturas de fusión del biodiesel derivado del aceite de palma y las incertidumbres que conciernen el cultivo de la palma, hacen que en Europa haya sido un mercado en cierto modo limitado. Sin embargo, la instalación de tecnología para producir hidrobiodiesel (carburante obtenido mediante hidrogenación catalítica de aceites y grasas de origen animal y vegetal) abre una puerta a que las exportaciones aumenten.

En Indonesia, la producción de biodiesel venía subvencionada en ~0.2 € por litro y las tasas de exportación de biodiesel derivado de aceite de palma resultan más favorables que las correspondientes al aceite de palma, de manera que se favorece la transformación local a

biodiesel (Lamers, 2012). La figura 1.15 muestra datos de producción, consumo y exportación de Indonesia, Malasia y Tailandia desde el 2008.

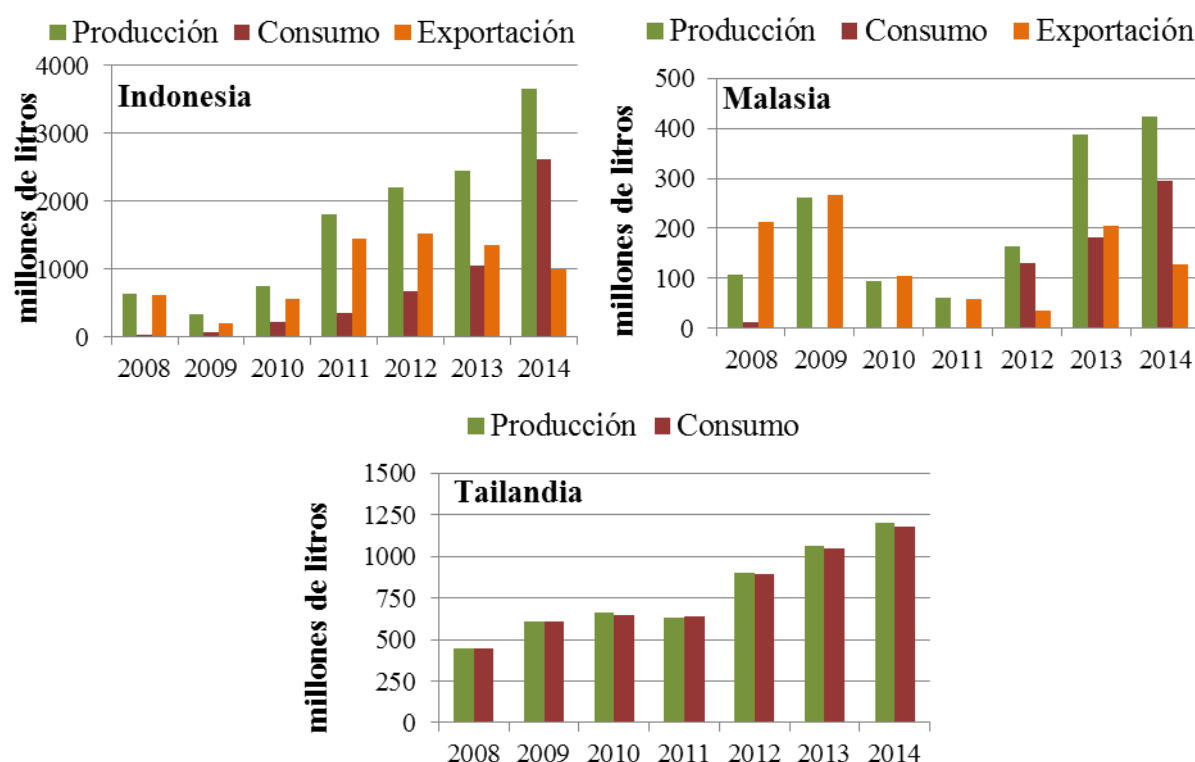


Figura 1.15. Datos de producción, consumo, importación y exportación de biodiesel en países del sudeste asiático: Indonesia, Malasia y Tailandia.

1.7. Transición en el uso de materias primas

La materia prima en la producción de biodiesel más empleada hasta la fecha ha sido el aceite de colza (ver figura 1.16), principalmente por la mayoritaria contribución de la Unión Europea en la producción de biodiesel. En Estados Unidos, Brasil y Argentina, es mayoritario el uso de aceite de soja. El aceite de fritura usado está siendo cada vez más empleado y en países como Reino Unido supone casi un 80% del total de las materias primas empleadas. Igualmente, en Canadá el aceite usado junto con las grasa de origen animal suponen una fuente importante en la producción de biodiesel. En Asia, es el aceite de palma la principal

materia prima más utilizada, aunque está ganando importancia en otras regiones como es el caso de la Unión Europea.

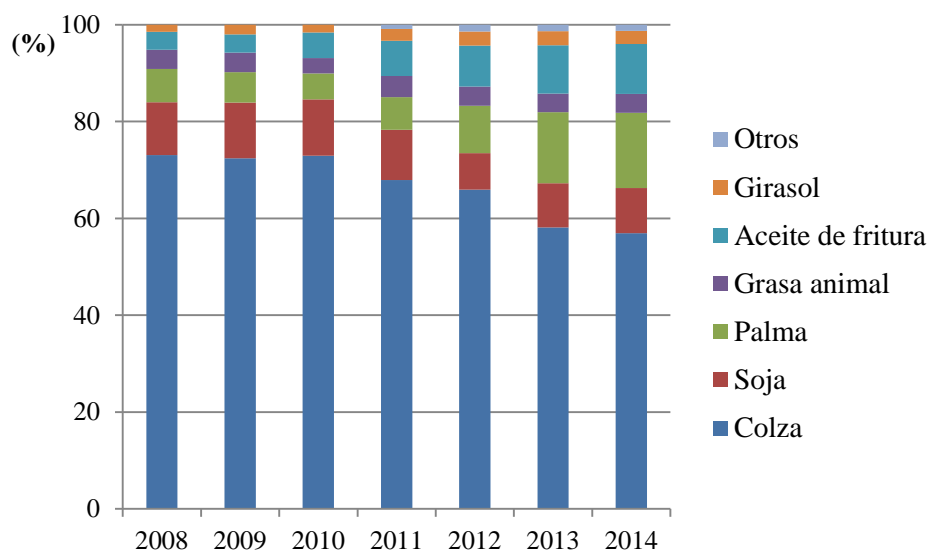


Figura 1.16. Materias primas empleadas en la producción de biodiesel en la Unión Europea.

En general, la producción de biodiesel está sufriendo una transición hacia el uso de materias primas que no compitan con cultivos dedicados a la alimentación, como materias consideradas subproductos (aceites de fritura usado, grasa animales, incluso lodos de depuradora o posos de café usados) o cultivos alternativos (jatropha, ricino, microalgas, etc.). En Brasil, India y algunos países de África (como Tanzania y Zambia) se están llevando a cabo programas estatales destinados a incentivar el cultivo de jatropha y ricino como cultivos agroenergéticos.

En 2009 se firmó una directiva por parte de la Comisión Europea (Directiva 2009/98/CE) para fomentar el uso de materias primas consideradas subproductos y que “*no compitieran directamente con las tierras agrícolas destinadas a los mercados de alimentos y piensos*” (denominados biocarburantes avanzados). El porcentaje de carburantes obtenidos de materias consideradas residuo o subproducto como el aceite de fritura usado o las grasas de origen animal sin aplicación comestible que además no impliquen una demanda adicional de suelo, podrá contarse como el doble a la hora de alcanzar la tasa de inclusión de energías renovables en el sector transporte. Los estados miembros han tomado diferentes medidas. Algunos no han incluido esta doble contabilidad (como Croacia, Suiza y República Checa) y otros estados

limitan la cantidad que puede ser sometida a doble contabilidad (Bélgica lo hace en un 1% y Francia en un 0.35%).

En Octubre de 2012, la Comisión Europea publicó una propuesta (COM (2012) 595) en la que limitaba al 5% el uso de combustible fabricado a partir de cultivos alimentarios para la totalidad del consumo energético final en el transporte en 2020. La Directiva 2009/98/CE ya propone la doble e incluso cuádruple contabilidad para biocarburantes procedentes de determinadas materias primas como son las algas o lodos residuales. Esta normativa se ratifica y modifica ligeramente en la propuesta de la Comisión en 2012.

Todas estas medidas vienen impulsadas por una creciente preocupación en cuanto a la sostenibilidad del uso de biocarburantes. En ocasiones los gases de efecto invernadero generados por el cambio indirecto de uso de suelo resultaban en un balance negativo en cuanto a la reducción global de estos. De la misma manera, la volatilidad de los precios de algunos alimentarios se veía incrementado por la elevada demanda de estos cultivos para la producción de biocarburantes (Rosillo-Calle et al., 2009).

Como puede verse en la Figura 1.17, la producción de aceites vegetales sufrió un aumento considerable debido a la creciente demanda para consumo alimentario por parte de los países emergentes, como China e India, y al desarrollo de la industria de biodiesel.

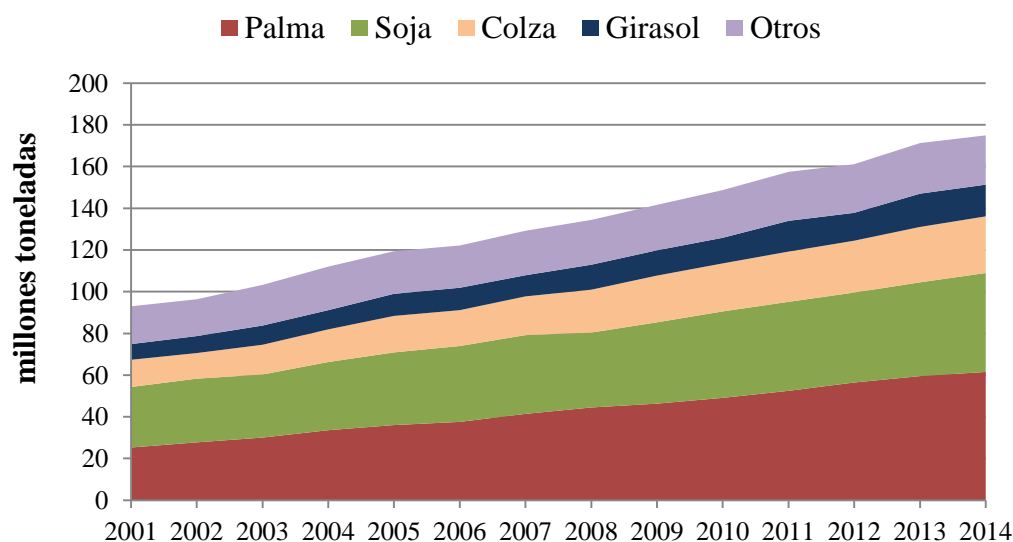


Figura 1.17. Producción mundial de los principales aceites vegetales. Figura adaptada de <http://apps.fas.usda.gov/psdonline>.

A continuación se realiza una breve descripción de algunas las materias primas empleadas para la producción de biodiesel:

1.7.1. Aceites vegetales convencionales

Los aceites vegetales empleados para la producción de biodiesel son los que se han destinado tradicionalmente a la alimentación. Los países han aprovechado la industria oleaginosa bien implantada para obtener biodiesel a partir de los mismos aceites. A continuación se describen algunos de los aceites vegetales más empleados:

Aceite de colza (*Brassica napus*): pertenece a la familia de las brasicáceas o crucíferas. Se cultiva para producir forraje, aceite vegetal para consumo humano y es la materia prima más empleada para la producción de biodiesel en la Unión Europea y Canadá. Soporta heladas de primavera, al contrario que otros cultivos como la soja o el girasol. Su uso en alimentación humana estaba limitado debido al contenido elevado en ácido erúico (C22:1 n-9), que demostró en pruebas con cerdos que su ingesta provocaba acumulación en el corazón y tenía influencias negativas en el metabolismo del hígado. La producción de nuevos genotipos que daban lugar a colza con bajo contenido en ácido erúico, denominada Canola. Esta variedad es comestible y es la que se cultiva desde los años 70.

Aceite de soja (*Glycine max*): pertenece a la familia de las leguminosas (Fabaceae). Hasta el siglo XX era cultivada y empleada ampliamente para alimentación humana en países como China, Corea, Vietnam o Japón. En Estados Unidos, era principalmente cultivada para alimentación animal, hasta los años 40, en los que la producción para harinas para alimentación humana superó la producción para forraje de animales. En la actualidad, es planta oleaginosa más cultivada y es la más empleada como fuente proteica.

Aceite de palma (*Elaeis guineensis*): denominada comúnmente palma aceitera, pertenece a la familia de los Arecales. Aunque originaria de Guinea Occidental, en la actualidad Malasia, Tailandia, Indonesia, Nigeria y Colombia son los mayores productores de aceite de palma. Se emplea como aceite de cocina y en la producción de repostería.

Aceite de girasol (*Helianthus annuus*): el girasol se cultiva en zonas de clima moderado (20-25°C) pero puede soportar grandes variaciones de temperatura (8-34°C). Es originario de América y llegó a Europa en el siglo XVI. Su consumo se ha visto incrementado en los últimos 40 años debido a su contenido en ácido linoleico, que es un ácido graso esencial.

Aceite de maíz: el maíz (*Zea mays*) pertenece a la familia de las gramíneas originaria de América. Se introdujo en Europa en el siglo XVII pero no cobró importancia hasta entrado el siglo XIX. En la actualidad es el cereal más cultivado. No se obtiene aceite directamente del maíz, sino del germen recuperado en el proceso de obtención de almidón. El contenido total de aceite en el grano de maíz es muy bajo (alrededor del 6%), por lo que su uso para la producción de biodiesel es muy limitado.

Aceite de coco y de babaçu: aunque son especies diferentes, la composición del aceite es muy similar. El coco es el fruto del cocotero (*Cocos uncifera*), y pertenece a la familia de los Arecales, comúnmente conocidos como palmeros o palmas. Se encuentra de manera natural en playas tropicales arenosas, pero su cultivo puede darse en climas cálidos. El babaçu (*Attalea speciosa*) pertenece también a la misma familia. Es nativa del bosque húmedo del Amazonas en Brasil y es empleado en alimentación y cosmética.

1.7.2. Aceites vegetales de uso no alimentario

Aceite de ricino (*Ricinus communis* L.): crece en regiones tropicales y subtropicales. Las semillas contienen ricina, una albúmina que resulta tóxica. Sin embargo, el aceite que se obtiene por prensado y calentamiento, no resulta tóxico debido a la destrucción de la ricina. De hecho, es usado como purgante. Se emplea para obtener barnices, lubricantes y líquidos para frenos. El ácido ricinoléico es el ácido graso mayoritario en el aceite de ricino. Su estructura, representada en la figura 1.18, es idéntica a la del ácido oleico, pero presenta un grupo hidroxilo en la posición 12 de la cadena.

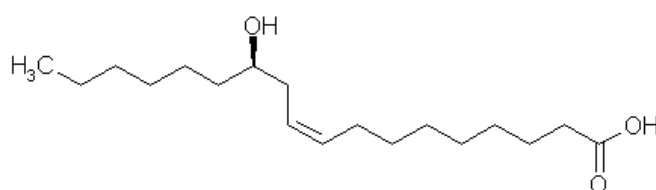


Figura 1.18. Estructura del ácido ricinoleico.

Aceite de Jatropha (*Jatropha curcas* L.): se trata de una planta nativa de Centroamérica, encontrándose en climas tropicales y semitropicales. Crece en suelos arenosos y pobres, y es resistente a la sequía. Su resistencia, rápido crecimiento y la grasa contenida en su semilla ha despertado gran interés en su uso como materia prima para el biodiesel. India, Brasil, Indonesia o Tanzania son países donde se está desarrollando su cultivo, ya que al no ser comestible, no compite con cultivos dedicados a la alimentación.

Aceite de Pongamia (*Pongamia pinnata*): es una planta nativa del sudeste asiático. Su aceite ha sido tradicionalmente empleado como tinte textil, para fabricar jabón, como lubricante o aceite para lámparas. Debido a su toxicidad, sabor y olor desagradable no ha sido empleado para alimentación. La búsqueda de materias primas alternativas para biodiesel ha hecho aumentar su cultivo.

1.7.3. Aceites de fritura usados

Tras el proceso de fritura, el aceite puede ser una fuente para producir biodiesel, aunque es preciso adecuar sus propiedades ya que contiene agua, ácidos grasos libres e impurezas sólidas. La cantidad generada de aceite usado está creciendo debido al aumento de población. En Estados Unidos se generan 10 millones de toneladas al año y en China 4.5 (Yaakob et al., 2013). La producción de biodiesel a partir de aceite de fritura usado evita el tratamiento de un residuo y disminuye el coste de producción.

1.7.4. Grasas de origen animal

El uso de grasas de origen animal para la producción de biocombustibles responde a la necesidad de encontrar materias primas a bajo coste. En algunos países como Canadá, México e Irlanda, suponen una fuente importante de obtención de biodiesel. A continuación se describen algunas de las grasas de origen animal empleadas:

Sebo de res: es la grasa bruta resultante de la extracción y limpieza de las vísceras. Incluyendo también la musculatura del esqueleto, aproximadamente la grasa supone un 3% del animal. En Brasil, esta materia prima supuso en 2009 el 19% de la cantidad total de materias primas empleadas para producir biodiesel, por debajo del aceite de soja. La extracción de la grasa se realiza elevando la temperatura y puede realizarse en presencia o ausencia de agua. En la extracción en seco, los tejidos grasos previamente troceados se someten a temperaturas elevadas (~120°C) y a agitación durante varias horas. La emulsión que resulta, grasa/agua, se separa por centrifugación. La extracción húmeda se realiza a menor temperatura (~80-90°C) y emplea vapor de agua. Si la grasa va a emplearse como fuente de alimentación humana, se emplea el proceso húmedo, además de someterse a posteriores etapas de refinado.

Grasa de cerdo: la grasa supone un 30% del peso eviscerado del cerdo. Se emplea en la industria alimentaria, como complemento en la repostería y como materia de fritura.

Grasa blanca, grasa amarilla y grasa marrón: la diferencia entre las tres es su calidad y contenido en ácidos grasos libres. La denominada grasa blanca (*white grease*) proviene de grasa de cerdo no comestible, y tiene bajo contenido en ácidos grasos libres. La grasa amarilla (*yellow grease*) proviene de partes de menor calidad. Su definición es confusa, ya que muchos autores emplean esta denominación a grasa reciclada de aceite que ha sido empleado para fritura de alimentos muy grasos, limitando su porcentaje de ácidos grasos libres hasta un máximo de 15. La grasa marrón (*brown grease*) proviene de grasas de diferente origen animal, y su contenido en ácidos grasos es el más elevado (15% en adelante). En 2010 se construyó la primera planta que emplea como materia prima grasa marrón, aceite de fritura y ácidos grasos destilados para producir 100.000 ton/año de biodiesel.

Los tejidos grasos contienen entre un 70 y un 90% de grasas. En el perfil lipídico de las grasas de origen animal mencionadas anteriormente, predominan los ácidos grasos saturados. Esta característica confiere elevada estabilidad a la oxidación; sin embargo, son grasas sólidas a temperatura ambiente o bien tienen puntos de fusión elevados, lo que limita su uso como combustible en climas fríos.

Aceite de pescado: el procesado del pescado da lugar a tres productos diferenciados, agua, aceite de pescado y un producto sólido (compuesto principalmente por proteínas). El contenido en aceite depende de la especie, que se pueden clasificar como:

- Blancos: con un contenido graso máximo del 2% que se encuentra almacenado en el hígado (bacalao, gallo, merluza, etc.)
- Semigrasos: cuyo contenido graso se encuentra entre el 2 y el 5%, apareciendo como gotas en extracelulares en el tejido muscular (carpa, besugo, trucha, etc.).
- Azules: con contenido que supera el 6% y que puede alcanzar incluso el 21%, como es el caso del arenque. Otros ejemplos son la caballa, el salmón, la sardina, etc.

El aceite de pescado es rico en ácidos grasos poliinsaturados, de gran valor nutricional. Sin embargo, la presencia de estos ácidos confiere al aceite una extremada facilidad para sufrir procesos de oxidación.

Existen diferentes métodos de extracción de aceite de pescado. Se pueden clasificar en físicos, químicos y biológicos. La extracción física consiste básicamente en cocción (con o sin agua) y posterior prensado o centrifugación para recuperar el aceite.

Los métodos de extracción química hacen uso de solventes, especialmente solventes no polares, con elevada capacidad para extraer el aceite. El uso de enzimas para la extracción de aceite de pescado es relativamente reciente pero se ha convertido en una buena alternativa a los métodos tradicionales. Las enzimas provocan la hidrólisis de las proteínas y permiten la liberación del aceite. Esta hidrólisis puede también realizarse sin el aporte de enzimas exógenas. El ensilado, consiste en la adición de ácido fórmico y otros ácidos minerales para mantener un valor de pH entre 3.5 y 4. A ese valor, se produce también la hidrólisis.

El aceite de pescado crudo debe ser sometido a un proceso de refinado si se quiere adecuar sus propiedades al consumo humano. Este refinado incluye métodos para la eliminación de impurezas (ácidos grasos libres, pigmentos, esteroides...), de compuestos tóxicos (metales pesados, dioxinas...) y de otros compuestos causantes de mal olor y coloración indeseada.

1.7.5. Microalgas

Las microalgas son organismos unicelulares fotosintéticos que existen en casi todos los hábitats conocidos. El contenido lipídico difiere mucho de una especie a otra, pero uno de los aspectos más atractivos es que la síntesis de triglicéridos puede ser manipulada por cambios de las condiciones de cultivo (luz, temperatura, nutrientes, etc.).

Para competir económicamente, la especie elegida debe presentar un crecimiento rápido y una producción de lípidos elevada (por encima del 70%). Sin embargo, aquellas especies que presentan un crecimiento rápido, acumulan menor cantidad de lípidos. El cultivo de las microalgas supone el 30% del total del coste de producción de biodiesel. La extracción del aceite es un proceso costoso ya que el aceite se encuentra dentro de cubiertas celulares rígidas, que deben ser destruidas (Rashid et al., 2014).

1.7.6. Otras materias primas

Otras materias primas que pueden emplearse para la producción de biodiesel debido a su contenido en lípidos son los lodos de depuradora, destilados de desodorización de aceites vegetales o posos de café.

1.8. Legislación y regulación

Aunque los requerimientos para el uso del biodiesel varían de un país a otro, no existen grandes diferencias entre ellos. Existen estándares que deben ser aplicados al biodiesel, que será o no mezclado con diésel. A su vez, la mezcla diesel/biodiesel debe cumplir otros requerimientos fijados por otros estándares.

➤ ESTADOS UNIDOS

- ASTM D 6751-07b: establece las especificaciones que debe cumplir el biodiesel que será posteriormente mezclado con diésel, en proporciones hasta 5%. No es por tanto aplicable para emplear biodiesel puro como combustible de automoción. La mezcla resultante debe a su vez cumplir correspondiente a combustibles diésel (ASTM D 975). El biodiesel se define en esta norma como combustible compuesto por ésteres monoalquílicos de ácidos grasos de cadena larga, producido a partir de aceites vegetales o grasas animales.
- ASTM D 7467-08: se aplica a mezclas de diésel que contengan desde un 6 hasta un 20% de biodiesel. En este caso, se acepta que el diésel no cumpla ciertas especificaciones de la norma correspondiente (ASTM D 975), como son el número de cetano, lubricidad o contenido de azufre o aromáticos. Sin embargo, la mezcla debe cumplir las especificaciones de la norma ASTM D 7467-08.

➤ UNIÓN EUROPEA

- EN 14214: se aplica tanto a biodiesel puro empleado como combustible en motores adaptados (B100) como a biodiesel que vaya a ser mezclado con diésel en proporciones de hasta un 10% del primero. La mezcla resultante debe igualmente cumplir las especificaciones correspondientes a la norma UNE-EN 590 (*Combustibles para automoción. Combustibles para motor diésel (gasóleo). Requisitos y métodos de ensayo*). En este caso, el biodiesel se define como combustible formado por ésteres metílicos de ácidos grasos producidos a partir de aceites vegetales o grasas animales. Es por tanto más restrictiva que la ASTM Internacional, que no se limita al uso de metanol como alcohol.
- EN 590: la norma Europea UNE-EN 590 se aplica a combustibles diésel de uso automotriz, que contengan hasta un 5% en volumen de biodiesel.

1.9. Norma europea en 14214:2012. Calidad del biodiesel

Como ya ha sido explicado, la normativa europea que asegura la calidad del biodiesel es la EN 14214. En la tabla 1.4 se recogen los requisitos de aplicación general y métodos de ensayo para asegurar la calidad del biodiesel acorde a la última versión.

Propiedad	Unidades	Límites		Método de ensayo
		mínimo	máximo	
Contenido en FAME	% (m/m)	96.5	-	EN 14103
Densidad (15°C)	kg/m ³	860	900	EN ISO 3675
Viscosidad (40°C)	mm ² /s	3.50	5.00	EN ISO 304
Punto de inflamación	°C	101		EN ISO 2719
Número de cetano	-	51.0		EN ISO 5165
Corrosión en lámina de cobre	Clasificación	Clase 1		EN ISO 2160
Estabilidad a la oxidación	h	8.0		EN 14112
Índice de acidez	mg KOH/g		0.50	EN 14104
Índice de yodo	g yodo/100 g		120	EN 14111
Éster de metilo de ácido linoléico	% (m/m)		12.0	EN 14103
Ésteres de metilo poliinsaturados (≥4 enlaces dobles)	% (m/m)		1.00	EN 15779
Contenido en metanol	% (m/m)		0.20	EN 14110
Contenido en monoglicéridos	% (m/m)		0.70	EN 14105
Contenido en diglicéridos	% (m/m)		0.20	EN 14105
Contenido en triglicéridos	% (m/m)		0.20	EN 14105
Glicerol libre	% (m/m)		0.02	EN 14105
Glicerol total	% (m/m)		0.25	EN 14105
Contenido en agua	mg/kg		500	EN ISO 12937
Contenido en cenizas sulfatadas	% (m/m)		0.02	ISO 3987
Contenido en azufre	mg/kg		10.0	EN ISO 20846
Metales del grupo I (Na+K)	mg/kg		5.0	EN 14108
Metales del grupo II (Ca+Mg)	mg/kg		5.0	EN 14538
Contenido en fósforo	mg/kg		4.0	EN 14107

Tabla 1.1. Requisitos y métodos de ensayo de la norma europea EN 14214:2012

A continuación se describen brevemente las propiedades referidas en la norma. En el siguiente capítulo (*1.10. Los ésteres metílicos de ácidos grasos como combustible de automoción*) se desarrollan en mayor profundidad la estabilidad a la oxidación y las propiedades en frío del biodiesel, ya que son las propiedades analizadas en este estudio.

➤ CONTENIDO EN FAME

Se trata del contenido mínimo de ésteres metílicos de ácidos grasos (del inglés fatty acid methyl esters).

➤ DENSIDAD A 15°C

Para el cumplimiento de la norma europea se requieren valores de densidad entre 860 y 900 kg/m³. Los sistemas de inyección se optimizan en rangos estrechos de densidad, para mantener la dosificación del combustible (Benjumea et al., 2009). La densidad es una propiedad fundamental en el uso de combustibles, dado que estas sustancias presentan variaciones de volumen debido a cambios de temperatura durante su manejo y comercialización. Un valor bajo de densidad provoca un aumento en el consumo volumétrico de combustible. La densidad del biodiesel es similar a la del diésel derivado del petróleo, y ligeramente inferior a la densidad de los aceites convencionales.

➤ VISCOSIDAD CINEMÁTICA

Una viscosidad demasiado elevada provoca una mala atomización del combustible en los inyectores, mientras que una viscosidad demasiado baja provoca pérdidas de potencia en el motor, ya que pueden darse fugas a través de la bomba y los inyectores (Benjumea et al., 2009). El biodiesel tiene valores de viscosidad un orden de magnitud menor que el aceite del que proviene. La elevada viscosidad del aceite vegetal es una de las principales razones que limita su uso como combustible en motores.

➤ PUNTO DE INFLAMACIÓN

Es la temperatura a la cual el combustible es capaz de formar una mezcla inflamable con el aire que lo rodea (en condiciones controladas) y depende por tanto de la volatilidad de las sustancias que componen dicho combustible. La norma define una temperatura mínima de 110°C. En este caso, el biodiesel tiene puntos de inflamación mayores que en el caso del gasóleo convencional, por lo que es más seguro. Valores bajos son indicativos de presencia de metanol, que debe ser eliminado mediante destilación. Sin embargo, si este valor es demasiado elevado, puede presentar problemas en el arranque en frío.

➤ NÚMERO DE CETANO

El número de cetano es un parámetro indicativo del retraso en la ignición del gasóleo, es decir, el tiempo requerido entre la inyección del combustible en la cámara de combustión y el comienzo de la combustión. Bajos número de cetano son indicativos de mayores retrasos en la ignición y llevan asociados mayores emisiones de óxidos de nitrógeno (NREL, 2003).

➤ **CORROSIÓN A LA LÁMINA DE COBRE**

Sirve para conocer si existen sustancias corrosivas que puedan atacar componentes del sistema fabricados con cobre o bronce. El biodiesel es más corrosivo que el gasóleo, y su efecto en las aleaciones de cobre es mayor que en las aleaciones férricas (Geller et al., 2008). Además, el biodiesel expuesto a determinados materiales metálicos no sólo provoca corrosión, sino que sufre una degradación propia (Haseeb et al., 2010).

➤ **ESTABILIDAD A LA OXIDACIÓN**

El biodiesel se degrada con mayor facilidad que el gasóleo, dando lugar a productos de oxidación que pueden formar depósitos o provocar un aumento en la viscosidad del combustible.

➤ **ÍNDICE DE ACIDEZ**

Se cuantifican con este parámetro los ácidos grasos libres que contiene el biodiesel. Valores elevados pueden provocar corrosión en el motor.

➤ **ÍNDICE DE YODO**

Es una medida del grado de insaturación del biodiesel. La presencia de insaturaciones da lugar a biodiesel fácilmente oxidable, causando los problemas anteriormente mencionados. Se limita a 120 gI₂/100 g. En España este valor queda establecido en 140.

➤ **ÉSTER METÍLICO DE ÁCIDO LINOLEICO**

El ácido linoleico es un ácido graso con una cadena hidrocarbonada de 18 átomos de carbono y dos insaturaciones, en las posiciones 9 y 12 (comenzando desde el extremo carboxílico –COOH de la molécula). Al igual que el ácido, el éster metílico derivado sufre oxidación con relativa facilidad, por lo que se limita su presencia en el biodiesel.

➤ **ÉSTERES DE METILO POLIINSATURADOS (≥ 4 DOBLES ENLACES)**

La facilidad de oxidación que tienen los ácidos grasos (y por tanto los ésteres metílicos derivados) aumenta con el número de dobles enlaces. Este aumento no es lineal: la oxidación relativa del ácido docosahexaenoico (C22:6) es 5 veces mayor que la del linolénico (C18:3) y 8 veces mayor que la del ácido linoleico (C18:2). Limitando el contenido en ésteres metílicos poliinsaturados, se limita indirectamente el uso de materias primas fácilmente degradables.

Además, el biodiesel derivado de ácidos grasos altamente insaturados tiene bajo índice de cetano, que se relaciona con mayores emisiones (NREL, 2003).

➤ CONTENIDO EN METANOL

El punto de inflamación del metanol es 11°C, por lo que no es de extrañar que su presencia en el combustible haga reducir el punto de inflamación del mismo. En la figura 1.19 puede verse como afecta la adición de metanol en el punto de inflamación de biodiesel (Romano y Sorichetti, 2010).

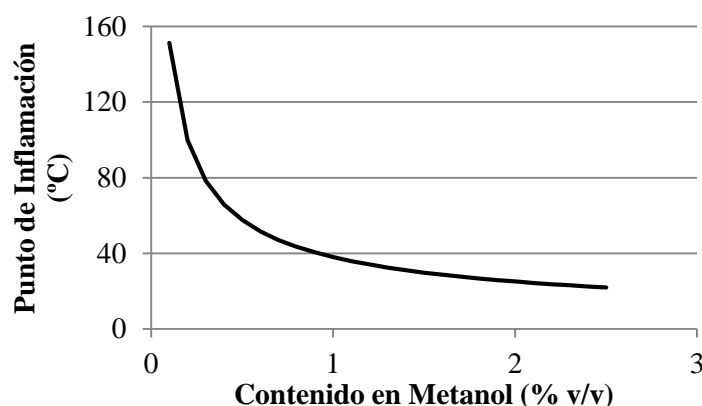


Figura 1.19. Variación del punto de inflamación con el contenido en metanol. Figura adaptada de Romano y Sorichetti, 2010.

Para disminuir el contenido en metanol se deben optimizar las etapas de purificación de los ésteres metílicos, sobre todo lavado y destilación.

➤ CONTENIDO EN MONOGLICÉRIDOS, DIGLICÉRIDOS Y TRIGLICÉRIDOS

La presencia de acilglicéridos es síntoma de una conversión incompleta en la transesterificación. Su presencia provoca turbidez y aumenta el punto de nube y fluidez del biodiesel. Al contrario que el glicerol, estos compuestos no son solubles en agua, por lo que es posible que queden trazas después de la purificación, siendo los monoglicéridos los más abundantes. Los monoglicéridos saturados tienen elevados puntos de fusión (77 y 82°C, en el caso de la monopalmitina y monoestearina, respectivamente). La presencia de monoglicéridos puede provocar un aumento de la viscosidad, pero parece que sólo se da cuando esta propiedad se mide a bajas temperaturas (Dunn, 2012). Además, el biodiesel que contiene elevadas cantidades de mono y diglicéridos tiene mayor tendencia higroscópica (Srivastava y Prasad, 2000).

➤ **CONTENIDO EN GLICERINA LIBRE Y GLICERINA TOTAL**

La glicerina libre es la glicerina que permanece en el biodiesel y su presencia es indicativa de una mala purificación y decantación. La glicerina total es la suma de la glicerina libre más la glicerina presente en forma de mono-, di- y triglicéridos. Un valor elevado de glicerina libre provoca emisiones de aldehídos y acroleína. Además, la glicerina libre y glicerol ligado puede ocasionar depósitos en el inyector y obstrucciones en el filtro (Dorado et al., 2011).

➤ **CONTENIDO EN AGUA**

El agua favorece la corrosión y el desarrollo de microorganismos. Los microorganismos producen lodos, que pueden provocar el taponamiento de filtros. También puede provocar reacciones de hidrólisis, con la consiguiente formación de ácidos grasos libres. Además de una eficiente eliminación por medio de destilación, el biodiesel es higroscópico y puede absorber pequeñas cantidades de agua de la atmósfera, hasta 150 ppm frente a 50 ppm en el caso del gasóleo convencional (Burton, 2008). Esta absorción aumenta con la temperatura. El agua contenida en el biodiesel provoca una disminución del poder de combustión (Demirbas, 2009). Además, los cristales de agua formados a bajas temperaturas pueden actuar como núcleos favoreciendo la gelificación del combustible.

➤ **CONTAMINACIÓN TOTAL**

La presencia de sedimentos depende de la cantidad de materia insaponificable. Estos compuestos tienen altos puntos de evaporización y pueden dejar residuos en el motor y obstruir filtros.

➤ **CONTENIDO EN CENIZAS SULFATADAS**

Este parámetro limita el contenido de materia inorgánica. Las cenizas es el residuo que permanece después de llevar a cabo una combustión completa de una muestra del combustible. La presencia de jabones metálicos solubles puede dar lugar a la formación de cenizas sulfatadas. Estas cenizas son abrasivas y pueden contribuir al taponamiento de filtros y generar depósitos en el motor.

➤ **CONTENIDO EN AZUFRE**

El azufre presente en el combustible genera emisiones de óxidos de azufre y material particulado. Algunos aceites y grasas empleados como materia prima en la producción de biodiesel no presentan contenidos en azufre significativos. Sin embargo, el aceite de colza o de mostaza, presenta glucosinolatos en su composición, que son compuestos que contienen

azufre. Algunos aceites usados también pueden contener azufre, ya que han sido empleados para cocinar elementos ricos en azufre.

➤ METALES DEL GRUPO I (Na + K) Y GRUPO II (Ca + Mg)

La presencia de metales provoca la formación de depósitos, cataliza las reacciones de oxidación del combustible y provoca el envenenamiento del sistema de control de emisiones del vehículo. Pueden aparecer asociados a sólidos abrasivos o a dar lugar a la formación de jabones metálicos.

➤ CONTENIDO EN FÓSFORO

El fósforo puede ocasionar daños en el convertidor catalítico de los motores diesel. Su presencia viene determinada por el grado de refinado que se haya sometido al aceite o grasa.

➤ PROPIEDADES EN FRÍO

En el caso de las propiedades de funcionamiento en frío, se distinguen dos escenarios posibles:

1. Uso de biodiesel como componente de mezcla con gasóleo: se establecen 5 grados en función del clima de cada región. Según las temperaturas alcanzadas, se asigna un grado al invierno y un grado al verano. Para cada grado, viene asignado un valor máximo del CFPP (punto de obstrucción de filtros en frío) que no debe sobrepasar el biodiesel.
2. Uso de biodiesel puro como combustible de automoción o calefacción: en caso de emplearse sin mezclar con gasóleo, existe la misma clasificación según el clima, pero los requisitos que debe cumplir son más estrictos.

CFPP max (°C)	Grado A	Grado B	Grado C	Grado D	Grado E	Grado F
Como componente de mezcla	13	10	2	0	-5	-10
Puro (FAME 100%)	5	0	-5	-10	-15	-20

Tabla 1.2. Requisitos para el CFPP (punto de obstrucción de filtros en frío) según la norma EN 14214:2012.

1.10. Los ésteres metílicos de ácidos grasos como combustible de automoción

Aunque los ésteres metílicos derivados de fuentes lipídicas pueden emplearse con diferentes propósitos, este trabajo se centra en su uso como combustible de automoción. Una de las mayores ventajas del uso de biodiesel en motores de combustión interna, es la reducción de emisiones de hidrocarburos, monóxido de carbono y materia particulada, comparado con el diésel convencional. Sin embargo, las emisiones de óxidos de nitrógeno aumentan en porcentajes que varían en función del estudio (Canakci, 2007; Gumus et al., 2012; McCarthy et al., 2011). La mayor presencia de oxígeno en biodiesel favorece la combustión completa, de manera que reduce las emisiones de materia particulada. La Agencia estadounidense para la protección del Medioambiente (EPA, 2002), cifra las reducciones de hidrocarburos, monóxido de carbono y materia particulada en un 70, 50 y 50 %, respectivamente, mientras que el aumento en emisiones de óxidos de nitrógeno ronda el 10%. En el caso de emplear mezclas de diesel/biodiesel, la reducción en emisiones de hidrocarburos, monóxido y materia particulada y el aumento en emisiones de óxidos de nitrógeno son mayores cuando aumenta la proporción de biodiesel. La formación de óxidos de nitrógeno, NO_x (principalmente NO y en menor medida NO₂) es compleja y depende de muchos factores (Hoekman y Robbins, 2002); actualmente hay varios procesos en fase de investigación que han conseguido reducir estas emisiones (Palash et al., 2013).

Otra ventaja es la elevada lubricidad, lo que hace que en ocasiones sea empleado no como carburante en sí mismo sino como aditivo para mejorar la lubricidad del gasóleo. Muestra también elevados puntos de inflamación, lo que hace que sea un combustible seguro de manejar.

Sin embargo, hay dos características importantes que limitan el uso del biodiesel en motores. Se trata de su baja estabilidad a la oxidación y los elevados puntos de fusión comparado con el diesel derivado del petróleo.

1.10.1. Estabilidad a la oxidación

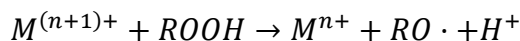
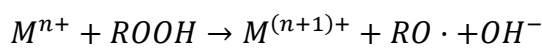
➤ AUTO-OXIDACIÓN

La auto-oxidación de los lípidos es una reacción basada en radicales libres. Como tal, cuenta con las tres etapas de iniciación, propagación y terminación.

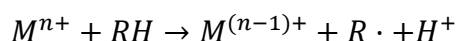
La **iniciación** se produce por la abstracción de un hidrógeno de un grupo metileno, dando lugar a un radical alquilo ($R\cdot$). Parece bastante probable que el proceso tenga su inicio en la descomposición de hidroperóxidos que se encuentran presentes como impurezas en aceites y grasas de origen vegetal y animal. La disociación de hidroperóxidos puede darse por vía térmica, por la acción catalizadora de metales redox o por la acción de la luz sobre una sustancia fotosensibilizadora (Bello-Gutiérrez, 2000).

Los metales pesados pueden actuar de diferentes maneras sobre la auto-oxidación lipídica:

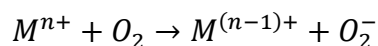
- (i) Acelerando la descomposición de hidroperóxidos dando lugar a la formación de radicales libres.



- (ii) Reacción directa con el sustrato no oxidado: esta reacción ocurre a muy baja velocidad y no juega un papel importante en el inicio de la auto-oxidación.



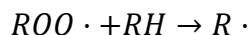
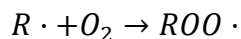
- (iii) Activación del oxígeno molecular: se produce así un radical anión superóxido que puede perder un electrón, produciendo singlete de oxígeno, o reaccionar con un protón del sustrato lipídico, formando un radical hidroperoxilo. Tanto el singlete de oxígeno como el radical hidroperoxilo son altamente reactivos e iniciarán la auto-oxidación.



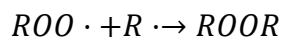
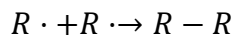
Los metales pueden encontrarse naturalmente en aceites y grasas como elementos trazas, formando parte de proteínas y otros compuestos. Los metales más eficaces en la oxidación son el hierro, cobre, níquel y manganeso.

1. Introducción

En la etapa de **propagación**, el oxígeno molecular en su estado fundamental triplete se adiciona al radical alquilo ($R\cdot$) formando un radical alcoxi ($RO\cdot$) o peroxilo ($ROO\cdot$). Estos radicales tienen elevada capacidad para captar un átomo de hidrógeno de una molécula lipídica, dando lugar a hidroperóxidos ($ROOH$) y a un nuevo radical alquilo ($R\cdot$).

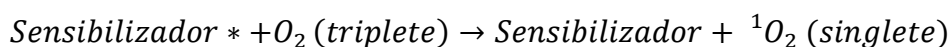
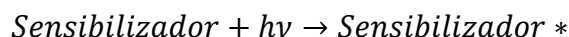


La **terminación** puede darse por la reacción de un radical alquilo ($R\cdot$) con un radical peroxi ($ROO\cdot$) o con otro radical alquilo dando lugar a una especie estable ($ROOR$ o RR), no iniciadora ni propagadora de la reacción. Los productos finales difieren en función del tipo de radicales que intervienen en la neutralización, así como de la disponibilidad de oxígeno y temperatura.



➤ FOTO-OXIDACIÓN

La oxidación directa por el oxígeno no es termodinámicamente favorable. La molécula de oxígeno en estado natural es un birradical ($\cdot O-O\cdot$) bastante estable. En su estado “triplete” tiene dos electrones desapareados, que ocupan cada uno de sus orbitales moleculares más externos, y ambos tienen spines paralelos. Es necesaria la absorción de energía por parte de uno de los electrones, de manera que cambie su spin y dé lugar al “singlete” o “singulete” del oxígeno, mucho más reactivo y oxidante. Sin embargo, el oxígeno singlete no se puede generar por la absorción directa de luz. Se requiere una molécula de fotosensibilizador que absorba un fotón de luz UV o visible, generándose su estado singlete. En la evolución al estado triplete puede colisionar con una molécula de oxígeno en estado fundamental. La transferencia de energía en esta colisión da lugar al oxígeno singlete, mientras que la molécula de fotosensibilizador vuelve al estado fundamental.



El oxígeno singlete reacciona 1500 veces más rápido con los lípidos que el oxígeno triplete, adicionándose directamente a los dobles enlaces. De esta manera, puede decirse que la luz

actúa como un iniciador de la auto-oxidación lipídica. Los fotosensibilizadores más comúnmente empleados son colorantes orgánicos que absorben luz visible (fenalenona, azul de metileno...). Los alimentos contienen pigmentos naturales que actúan como fotosensibilizadores, como por ejemplo la clorofila, feofitina y hemoglobina. La adición de cantidades crecientes de clorofila a un aceite reduce su estabilidad oxidativa en presencia de luz.

La estabilidad a la oxidación se cuantifica a partir de diferentes ensayos, que son resumidos en el capítulo 4.2.11 *Medida de la estabilidad a la oxidación* del presente trabajo. Puede cuantificarse la cantidad de compuestos de oxidación generados en un determinado intervalo de tiempo o mediante la monitorización de los cambios energéticos derivados de las reacciones de oxidación.

➤ OXIDACIÓN DE COMPUESTOS INSATURADOS

Los grupos metilenos adyacentes a los dobles enlaces son altamente reactivos, por lo que los hidrógenos unidos a estos grupos son lábiles y de fácilmente sustracción. Estas posiciones se denominan *alílicas*. Por este motivo, el grado de insaturación de una grasa es un factor determinante en la velocidad de oxidación. Sin embargo, más importante que el factor anterior es el tipo de insaturación. En el caso de los dienos no conjugados, la posición en el grupo metileno intermedio a los dobles enlaces se denomina posición *bisalílica*, y es más reactiva que la posición *alílica*. En la figura 1.20 se representa la estructura del ácido linoleico y ruménico, como ejemplo de dieno no conjugado y conjugado, respectivamete.

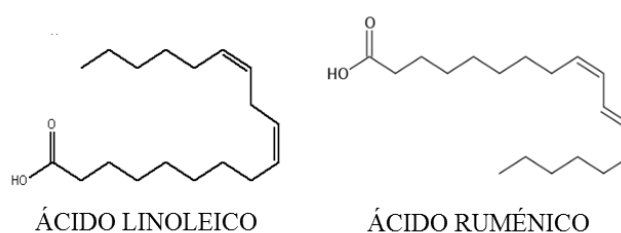


Figura 1.20. Estructura del ácido linoleico (dobles enlaces no conjugados) y ácido ruménico (dobles enlaces conjugados).

Respecto al ácido esteárico (C18:0) el ácido oleico se oxida 100 veces más rápido, el ácido linoleico (C18:2) lo hace 1200 veces más rápido y el linolénico (C18:3) unas 2500 veces más rápido (Bockish, 1998). De esta misma manera, la velocidad de oxidación de los correspondientes ésteres metílicos sigue el mismo patrón (figura 1.21).

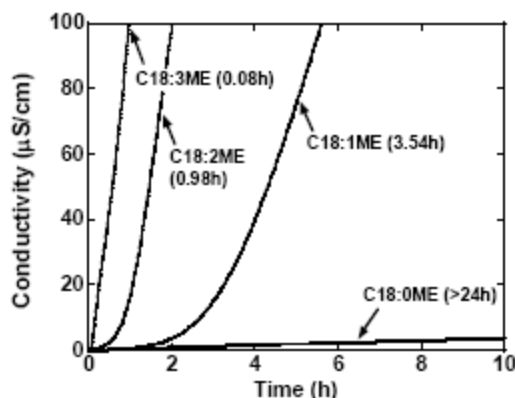


Figura 1.21. Medida de la estabilidad a la oxidación de estearato de metilo (C18:0ME), oleato de metilo (C18:1ME), linoleato de metilo (C18:2ME) y linolenato de metilo (C18:3ME).

La energía necesaria para sustraer un hidrógeno en una posición alilo decrece desde 99 kcal/mol si se encuentra en un grupo metileno, hasta 80 kcal/mol en una posición alílica y hasta 40 kcal/mol en una posición bisalílica.

➤ PRODUCTOS DE OXIDACIÓN

Los **productos primarios** de la oxidación son los hidroperóxidos. Los mecanismos de autooxidación y fotooxidación dan lugar a distintos hidroperóxidos. En la autooxidación, los lípidos oxidados se reorganizan internamente dando lugar a dienos conjugados, mientras que la fotooxidación da lugar a proporciones similares de hidroperóxidos conjugados y no conjugados.

Los hidroperóxidos se descomponen fácilmente dando lugar a **productos secundarios**, que son compuestos volátiles, principalmente aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos orgánicos de cadena corta. A diferencia de los hidroperóxidos, los productos secundarios volátiles son fácilmente detectables incluso a bajas ppb, siendo los responsables de olores y sabores asociados a la rancidez de las sustancias lipídicas. El mecanismo más probable es la ruptura homolítica del enlace RO-OH.

Ácido (ppm)	B100	B5	Diesel
Ácido fórmico	620	180	120
Ácido acético	410	190	170
Ácido propiónico	160	89	43
Ácido caproico	50	316	47

Tabla 1.3. Ácidos orgánicos de cadena corta producidos en la oxidación del biodiesel 100 % (B100), mezcla diesel-biodiesel 5% (B5) y diesel.

Otros compuestos estables de oxidación secundaria son monómeros, dímeros y polímeros, que contienen funciones epoxi, hidroxilo y cetona. Los dímeros formados pueden ser no polares (dímeros puente C-C) o de mayor polaridad (dímeros puente éter C-O-C y dímeros puente peróxido C-O-O-C). La polimerización dará lugar a la formación de compuestos de muy diferente polaridad y peso molecular.

➤ EFECTOS DE LA OXIDACIÓN DEL BIODIESEL

La formación de biopolímeros causa un incremento en la viscosidad del biodiesel. Esto puede ocasionar la formación de especies insolubles que bloqueen filtros y bombas. Sin embargo, en base a numerosos estudios no se ha observado el bloqueo de filtros y conducciones (Monyem, 1998). Esto puede deberse a que las sustancias originadas por la oxidación del biodiesel son solubles en éste, y por tanto sólo se vuelven insolubles cuando se mezcla con diésel. Los depósitos en inyectores y filtros pueden deberse a altos contenidos en glicerina, mono-, di- y triglicéridos, o en agua capaz de hidrolizar los ésteres aumentando la corrosión.

Los ácidos de cadena corta derivados de la oxidación causan corrosión de los materiales en contacto y pueden disociar metales que catalizan la formación de peróxidos.

Los polímeros originados por la oxidación del biodiesel ocasionan un aumento en la viscosidad (Bouaid et al., 2007). La viscosidad afecta a la atomización del combustible. Si esta es elevada puede darse una combustión pobre que resulta en pérdida de potencia y en posible formación de depósitos (Xue et al., 2011).

El consumo específico de combustible (BSFC, del inglés Break-Specific Fuel Consumption) es la cantidad de combustible necesaria para ejecutar un trabajo determinado. Se mide en g/kW·h. El biodiesel tiene un consumo específico mayor que el diésel No 2. Este valor varía entre un 13 y un 15% según diferentes estudios (Monyem y Van Gerpen, 2001) y el biodiesel oxidado presenta un consumo ligeramente mayor que el biodiesel no oxidado, aunque esta diferencia no es significativa.

El poder calorífico inferior evalúa el balance energético de un combustible. Esta magnitud se expresa en unidades de energía por unidad de masa o volumen. El biodiesel presenta menor poder calorífico que el diésel No 2, y no se observan diferencias notables cuando se emplea biodiesel oxidado. Si se expresa en unidad de masa, el biodiesel presenta un poder calorífico

un 13% menor que el diésel. Al expresarse por unidad de volumen, puesto que el biodiesel presenta mayor densidad, esta diferencia se reduce hasta un 8%.

Varios estudios han analizado la influencia del estado de oxidación del biodiesel en la emisión de diferentes compuestos. Las emisiones de hidrocarburos inquemados, monóxido de carbono y óxidos de nitrógeno resultan menores cuando el biodiesel ha sufrido procesos de oxidación (Monyem y Van Gerpen, 2001). En el caso de los hidrocarburos inquemados, este hecho puede deberse al aumento en el número de cetano que conlleva la oxidación del biodiesel. Un menor retardo en la ignición también reduce la cantidad de combustible en la cámara de combustión, y con ello la presencia de hidrocarburos inquemados.

➤ USO DE ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son sustancias orgánicas de origen natural o sintético capaces de retrasar la oxidación de un material u otra sustancia. Según su mecanismo de acción, pueden diferenciarse en primarios o inhibidores y secundarios.

ANTIOXIDANTES PRIMARIOS

Son también llamados “chain-breaking” puesto que actúan interceptando o atrapando los radicales libres involucrados en la oxidación, dando lugar a sustancias estables y menos reactivas. No actúan en la fase inicial de la reacción en cadena, sino que lo hacen en la etapa de propagación.



La primera reacción tiene poca importancia, mientras que las reacciones 2 y 3 son predominantes puesto que los radicales peroxi ($ROO \cdot$) son mayoritarios en las reacciones de oxidación. El factor estequiométrico, es decir, el número de reacciones interrumpidas por la acción de una sustancia antioxidante inhibidora es 2 (Scott, 1985). La especie radicalaria formada $A \cdot$ tiene baja reactividad y no es capaz de propagar la reacción en cadena.

Los antioxidantes cuentan con uno o más átomos de hidrógeno lábiles, que resultan fácilmente sustraídos por los radicales peroxi. De esta manera se interrumpe la etapa de propagación ya que se generan especies estables y no radicalarias.

Antioxidantes fenólicos

Son ampliamente utilizados debido a su elevada eficacia. Su estructura se compone de un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo, pudiendo incluir también derivados funcionales como ésteres, glicósidos, etc. Los antioxidantes fenólicos son donadores de hidrógeno o electrones que dan lugar a intermedios radicalarios relativamente estables debido a la deslocalización por resonancia del electrón desapareado dentro del anillo aromático. La estructura química del compuesto fenólico ejerce una elevada influencia en su actividad como antioxidante. Las sustituciones de grupos funcionales en posiciones *orto* aumentan considerablemente la actividad antioxidante comparada con las sustituciones en posición *para*, ya que estos últimos presentan menor impedimento estérico (Chimi et al., 1991). Los compuestos fenólicos están distribuidos en todo el reino vegetal. Ejemplos de compuestos fenólicos de origen natural que actúan como antioxidantes son los tocoferoles, flavonoides (catequina, quercetina, myricetina, etc) y ácidos fenólicos (ácido cafeico, ferúlico, vanílico, carnósico, rosmarínico, etc).

-TOCOFEROLES: los tocoferoles se encuentran en los aceites vegetales como constituyentes minoritarios. Se trata de compuestos con un anillo cromano y una cadena lateral. En función del número y posición de los grupos metilo en el anillo, se encuentran 4 formas naturales: α , β , γ y δ . Junto con los tocotrienoles (también formados por 4 isómeros α , β , γ y δ -tocotrienol) forman la vitamina E. La figura 1.22 muestra la estructura del α -tocoferol y del α -tocotrienol. La cadena de los tocoferoles es saturada mientras que los tocotrienoles presentan 3 insaturaciones en las posiciones 3, 7 y 11. El α -tocoferol es el más abundante y el de mayor actividad antioxidante.

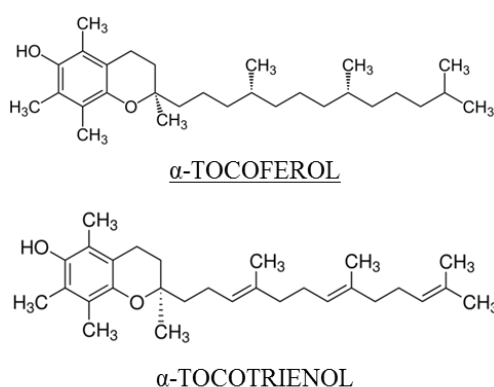
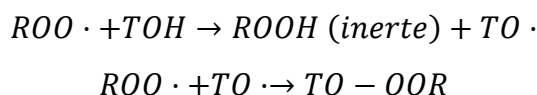


Figura 1.22. Estructura del α -Tocoferol y α -Tocotrienol.

Los tocoferoles actúan al menos de dos maneras en las reacciones de radicales libres: (i) donando un hidrógeno al radical peróxido ($ROO\cdot$) para producir hidroperóxidos ($TO\cdot$) y (ii) formando un compuesto estable ($TO-OOR$) entre el radical tocoferil ($TO\cdot$) y un segundo radical peróxido.



Los tocoferoles inhiben la etapa de propagación puesto que el radical tocoferil ($TO\cdot$) es varios órdenes de magnitud más estable que aquellos radicales formados a partir de los lípidos insaturados ($R\cdot$) (Kamal-Edin et al., 2003). Se ha encontrado también actividad prooxidante del tocoferol *in vitro*, es decir, aislando el lípido y el tocoferol (Niki et al., 2005). Este efecto prooxidante no tendría lugar *in vivo*, gracias a su regeneración por el ácido ascórbico (vitamina C).

Los antioxidantes fenólicos de origen sintético cuentan con grupos alquilo que favorece su solubilidad en sustancias lipídicas. Los más empleados, mostrados en la figura 1.23, se describen a continuación:

-BHA (hidroxibutilanisol): es un compuesto con un solo sustituyente hidroxilo que existe como mezcla de dos isómeros, 3-tert-butil-4-hidroxianisol (90%) y 2-tert-butil-4-hidroxianisol (10%). El primero de ellos tiene mayor actividad antioxidante. Es volátil a elevadas temperaturas.

-BHT (butilhidroxitolueno): al igual que el BHA, se trata de un compuesto monofenólico de nombre 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol. Es muy empleado debido a su solubilidad en grasas y a sus sustituyentes alquilo: la alquilación de compuestos fenólicos en posiciones 2,4 y 6 aumenta su efectividad. Los mejores resultados se obtienen con sustituciones en las tres posiciones, con un grupo metilo en posición *para* y al menos un grupo terc-butilo en posición *orto*. Como puede verse en la figura 1.23, esta configuración se corresponde con la estructura del BHT. Es más estable que el BHA a elevadas temperaturas. Sin embargo, al igual que el BHA, el butilhidroxitolueno presenta baja actividad antioxidante en aceites vegetales, pero elevada en procesos de horneado, por lo que se emplea junto con otros antioxidantes primarios en la industria alimenticia.

-TBHQ: terc-butilhidroquinona. Es un compuesto difenólico derivado de la hidroquinona que cuenta con un grupo terc-butilo en posición *orto*. Soluble en aceites y grasas, desde que se aprobó en 1972 en Estados Unidos, ha sido ampliamente empleado por su eficacia en aceites de fritura por su elevada estabilidad térmica.

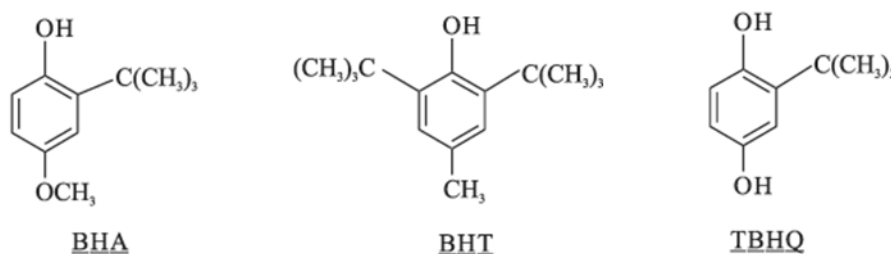


Figura 1.23. Estructura de antioxidantes fenólicos sintéticos.

-Ésteres derivados del ácido gálico: el éster más empleado es el galato de propilo, pero tiene baja solubilidad en grasas y aceites y no puede ser empleado en aceites de fritura por su volatilidad a elevadas temperaturas. El galato de octilo o de dodecilo, en la figura 1.24, son sustancias más liposolubles y estables térmicamente.

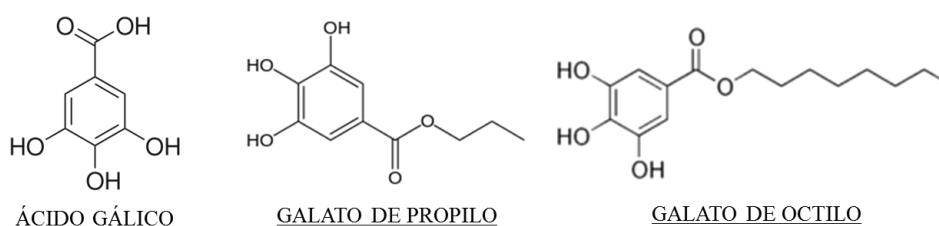


Figura 1.24. Estructura del ácido gálico y ésteres derivados.

Tienen elevada capacidad para formar quelatos con metales presentes como elementos traza, por lo que retrasan la oxidación catalizada por metales. Sin embargo, los quelatos con hierro otorgan una coloración azul, afectando a la apariencia de los alimentos a los que se adiciona. Por este motivo, los galatos son siempre empleados junto con un agente secuestrador de metales más potente, como el ácido cítrico, evitando así la aparición de coloración indeseada.

Aminas

El mecanismo antioxidante es el mismo que en el caso de los compuestos fenólicos. El hidrógeno donado es de un grupo amino y no de un grupo hidroxilo. El más empleado es la

etoxiquina (6-etoxi-2,2,4-trimetil-1,2-dihidroquinolina) que se emplea como aditivo en alimento para animales. Es también empleado para evitar la degradación de pigmentos naturales como los carotenoides.

ANTIOXIDANTES SECUNDARIOS

A diferencia de los primarios, los antioxidantes secundarios no intervienen reaccionando con los radicales libres para dar lugar a moléculas más estables. Actúan de tres maneras diferentes:

- (i) Formando quelatos con iones metálicos, impidiendo así que actúen de catalizadores de la oxidación. La actividad antioxidante puede ejercerse impidiendo el ciclo redox del ión metálico, mediante la ocupación de todos los sitios de coordinación del metal o mediante la formación de complejos metálicos impidiendo estéricamente las interacciones entre el metal y los hidroperóxidos.

Dentro de este grupo se encuentran ácidos orgánicos de origen natural como el ácido cítrico, málico, succínico, tartárico, etc. y de origen sintético como el ácido etildiaminotetraacético (EDTA). La estructura de alguno de ellos se muestra en la figura 1.25. Son sustancias solubles en agua, pero el ácido cítrico puede emplearse en aceites y grasas puesto que es liposoluble.

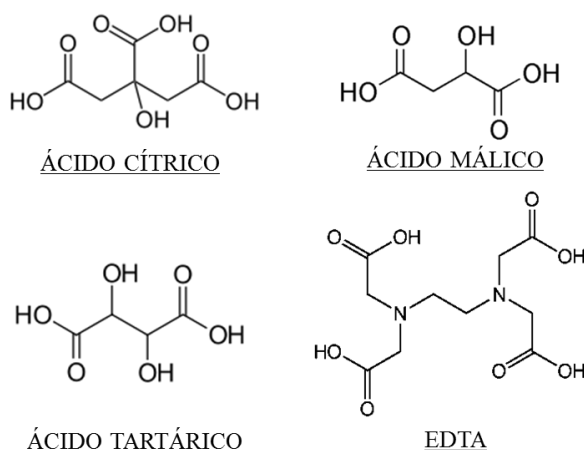


Figura 1.25. Antioxidantes empleados para formar quelatos con metales.

- (ii) Como agentes reductores o captadores de oxígeno: se emplean junto con otros antioxidantes primarios, ya que pueden intervenir en un sistema redox, regenerando antioxidantes primarios evitando así que decaiga su actividad. Compuestos como el anión superóxido (O_2^-) o peróxidos no interaccionan directamente con los lípidos para iniciar la oxidación. El ácido ascórbico y sus ésteres funcionan de esta manera. El ácido ascórbico o Vitamina C es un ácido orgánico que se encuentra de forma natural en fuentes vegetales y algunos animales, pero no está asociado con grasas y aceites debido a su baja solubilidad. Se sintetizan ésteres derivados, como el estereato de ascorbilo o el palmitato de ascorbilo, solubles en grasas (figura 1.26). Actúan donando un hidrógeno, de manera que los hidroperóxidos formados se convierten en compuestos más estables. Actúa como regenerador de radicales de antioxidantes primarios, como por ejemplo del radical tocoferilo, de manera que pueden continuar su actividad.

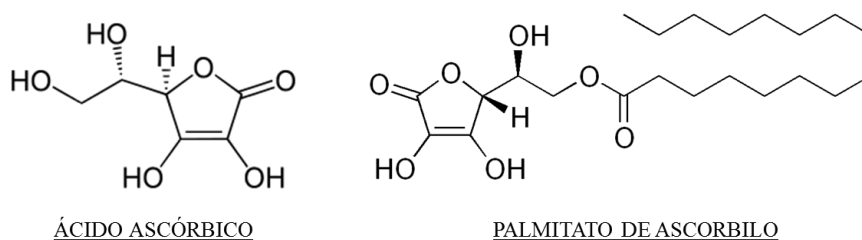


Figura 1.26. Estructura del ácido ascórbico (origen natural) y palmitato de ascorbilo (origen sintético).

1.10.2. Temperaturas de congelación y cristalización

El biodiesel, al igual que el diesel, es susceptible de sufrir procesos de cristalización a bajas temperaturas. La temperatura a la cual este proceso tendrá lugar depende de varios factores como es la naturaleza de la molécula, peso molecular y la presencia y número de insaturaciones en la cadena hidrocarbonada.

➤ CRISTALIZACIÓN

Con descensos de temperatura, las parafinas de elevado peso molecular (n-alcanos C_{18} - C_{30}) comienzan el proceso de nucleación y formación de cristales suspendidos en una fase líquida compuesta por parafinas de menor peso molecular (C_1 - C_5). La nucleación es probablemente el factor más influyente en la cristalización. La formación de núcleos en la fase líquida requiere

una cierta organización molecular. Hay una barrera energética que se opone a esta transición, sin embargo, cuando ocurre la nucleación hay una liberación de energía (calor latente de fusión). En ese punto máximo energético, existe un tamaño crítico para la formación de un núcleo estable. Por encima de ese máximo, se forman núcleos estables que continúan creciendo, mientras que agrupaciones de partículas menores que el tamaño crítico, se dispersan en la fase líquida.

La nucleación y cristalización tiene lugar a mayores temperaturas en compuestos con saturados que en compuestos con insaturaciones. Los enlaces sencillos de los ácidos grasos saturados hacen que éstos adopten una disposición lineal, favoreciendo la formación de una estructura casi cristalina debido a interacciones Van der Waals. Las insaturaciones provocan un quiebro en la linealidad de la cadena hidrocarbonada, lo que hace que no se generen estructuras tan empaquetadas. En el caso de insaturaciones *trans*, su estructura presenta conformación espacial similar a la de los ácidos grasos saturados, y por tanto un similar comportamiento ante bajas temperaturas. Sin embargo, los dobles enlaces *trans* son muy raros en la naturaleza.

El punto de fusión aumenta con la longitud de la cadena hidrocarbonada. En la tabla 1.4 se recogen los puntos de fusión de diferentes ácidos grasos y los correspondientes ésteres metílicos.

PUNTOS DE FUSIÓN (°C)		
	Ácido graso	Éster metílico
C8:0	16	-40
C12:0	44	5
C14:0	58	19
C16:0	63	30
C18:0	71	39
C18:1 <i>cis</i>	16	-20
C18:1 <i>trans</i>	43	13
C18:2	-5	-35
C18:3	-11	-52
C22:0	80	55
C22:1	33	-4

Tabla 1.4. Puntos de fusión de ácidos grasos y sus ésteres metílicos.

En el caso del biodiesel, se emplean varios parámetros para evaluar sus propiedades a baja temperatura (serán descritos en mayor detalle en la sección 3. *Métodos de Análisis*). El punto de enturbamiento o de niebla (CP, del inglés cloud point) determina la temperatura a la que los cristales formados se hacen visibles. El punto de fluidez (PP, del inglés pour point) es la mínima temperatura a la cual el biodiesel es capaz de fluir. El punto de obstrucción de filtros en frío (CFPP, del inglés cold filter plugging point) es la temperatura mínima a la cual el biodiesel es capaz de atravesar un filtro en determinadas condiciones.

➤ MÉTODOS PARA MEJORAR EL FLUJO A BAJA TEMPERATURA

Mezclas con diesel

Al medir los parámetros de funcionamiento en frío de diesel mezclado con biodiesel de diferentes aceites vegetales, se vio que materia prima utilizada en la producción del biodiesel (lo que determina su comportamiento a bajas temperaturas) no influye de manera significativa cuando se mezcla con diésel en proporciones del 1 al 5%: el uso de ésteres metílicos de aceite de palma (con un CFPP de 12°C) aumenta el CFPP del diesel desde -17 a -13°C, mientras que al emplear ésteres de aceite de colza (cuyo CFPP es de -12°C) produce un aumento de -17 a -15°C (Moser, 2014).

En la figura 1.27 se muestra la variación del punto de niebla y de fluidez medido para mezclas de biodiesel derivado de aceite de soja y diésel#1, diésel#2 y keroseno.

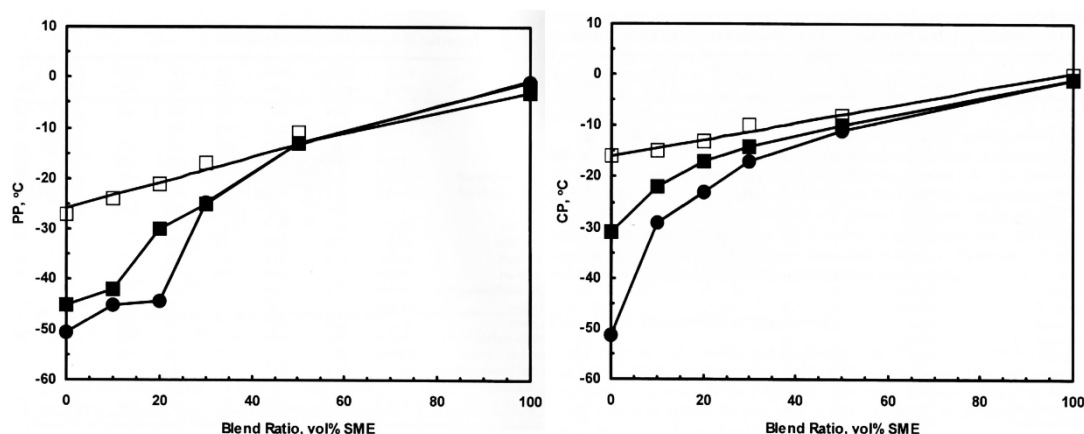


Figura 1.27. Punto de fluidez (PP) y punto de niebla (CP) de mezclas biodiesel-diésel en función del contenido de biodiesel de aceite de soja. ■ mezcla con diésel#1, □ mezcla con diésel#2 y ● mezcla con keroseno (Dunn, 2005).

Transesterificación con alcoholes ramificados

El uso de alcoholes de ramificados da lugar a ésteres con estructura ramificada, de manera que disminuye su temperatura de cristalización. También provoca un descenso de temperatura de cristalización y fusión el uso de alcoholes de cadena larga (Lee et al., 1995). En la tabla 1.8 se puede observar la disminución del punto de fluidez de ésteres derivados de aceite de soja y diferentes alcoholes. Sin embargo, el uso de alcoholes ramificados conlleva a un mayor coste del proceso, ya que resultan más caros que el metanol y etanol. Además, las conversiones no son elevadas y el uso de alcoholes de mayor peso molecular puede resultar en un aumento de la viscosidad (Mallins et al., 2014).

Alcohol empleado	Propiedades en frío de los ésteres alquílicos (°C)
	Punto de fluidez
Metanol	-2
Etanol	-4
Butanol	-7
Isopropanol	-12
Isobutanol	-15

Tabla 1.5. Propiedades en frío de aceite de soja transesterificado con diferentes alcoholes (Lee et al., 1995; Fukuda et al., 2001; Lang et al., 2001).

Fraccionamiento por cristalización

El fraccionamiento (también denominado winterización) es una operación física que se basa en la diferencia de temperaturas de fusión de los componentes individuales, de manera que permite la separación de aquellos con mayores temperaturas de fusión. En el caso del biodiesel, estos compuestos serán los ésteres alquílicos saturados. El punto de niebla del biodiesel puede ser reducido de esta manera, pero el proceso requiere de varias etapas y se producen pérdidas respecto a la mezcla original. También puede realizarse mediante el uso de solventes como hexano, isopropanol o etanol (Dunn, 2005). Sin embargo, puesto que el biodiesel final estará mayoritariamente compuesto por compuestos insaturados, desciende el número de cetano. Este hecho, unido a la necesidad de realizar varias etapas de cristalización, al bajo rendimiento y al elevado coste asociado, hace que no sea una alternativa muy empleada.

Uso de aditivos

Los aditivos mejoradores de las propiedades en frío tienen dos mecanismos de actuación: (i) inhibición de la aglomeración y crecimiento de cristales de parafina y (ii) modificación en la morfología de los cristales. Son materiales poliméricos de bajo peso molecular que cuentan con una cadena hidrocarbonada y un grupo polar responsable de la modificación de la morfología de los cristales necesaria para impedir su agregación.

- Inhibidores de la aglomeración y crecimiento de cristales: las moléculas de aditivo cristalizan en los límites de los cristales formados, impidiendo así su crecimiento. Estos cristales tienen un tamaño tal que no obstruyen filtros y no pueden formar una red de aglomerado. Puesto que no actúan en la fase inicial de cristalización, el punto de niebla no se ve afectado, pero sí el punto de obstrucción de filtros en frío y el punto de fluidez.
- Modificadores de la morfología de cristales: al descender la temperatura, las moléculas de aditivos se agregan antes de que lo hagan las parafinas del combustible. Estos agregados poliméricos forman muchos cristales de pequeño tamaño en lugar de formar pocos aglomerados de mayor tamaño. Los pequeños cristales de aditivo actúan como núcleos de cristalización para las parafinas, siendo por tanto promotores de la cristalización. Sin embargo, debido a la interacción entre el polímero y las parafinas, la interacción entre parafinas es inhibida. Los cristales resultantes son capaces de pasar a través de los filtros y conducciones. Ejemplos de algunos materiales empleados se muestran en la figura 1.28. Se trata de poliacrilatos, polímeros de olefinas y acetato de vinilo (EVA, del inglés Ethylene-co-vinylacetate), etc.

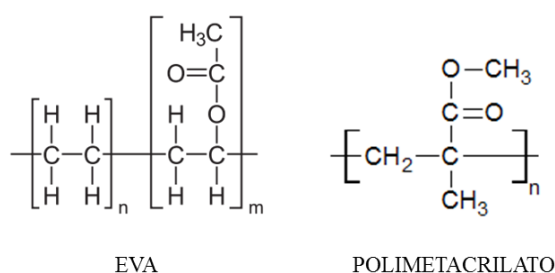


Figura 1.28. Estructura de EVA (etilvinilacetato) y polimetacrilato.

Una de las estrategias seguidas para mejorar estas propiedades ha sido emplear una mezcla de materias primas que dé lugar a un determinado perfil lipídico. Existen numerosos

estudios en los que se evalúan las propiedades de mezclas de biodiesel de diferentes orígenes, estableciendo a su vez correlaciones entre la composición y dichas propiedades (Sarin et al., 2007; Albuquerque et al., 2009; Sarin et al., 2009; Moser, 2008). Sin embargo, estos estudios emplean materias primas compuestas mayoritariamente por ácidos grasos de 16 ó 18 átomos de carbono (Smith et al., 2010), obviando así la influencia que suponen los ácidos grasos de cadena corta (entre 4 y 14 átomos de carbono) existente en grasas vegetales cuyo uso para la producción de biodiesel está empezando a considerarse.

1.11. Referencias

- Albuquerque M.C., Machado Y.L., Torres A.E.B., Azebedo D.C.S., Cavalcante C.L., Firmiano L.R., Parente E.J.S. (2009). "Properties of biodiesel oils formulated using different biomass sources and their blends" *Renew Energ* 34: 857-859.
- ANP. (2014). Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, "Oil, Natural Gas and Biofuels Statistical Yearbook 2014" (2014); disponible en <http://www.anp.gov.br>.
- Aranda D.A., Santos R.T., Tapanes N.C., Ramos A.L.D., Antunes O.A.C. (2008). "Acid-catalyzed homogeneous esterification reaction for biodiesel production from palm fatty acids". *Catal Lett* 122: 20-25.
- Arzamendi G., Arguiñarena E., Campo I., Zabala S., Gandía L.M. (2008). "Alkaline and alkaline-earth metals compounds as catalysts for the methanolysis of sunflower oil", *Catal Today* 133: 305-313.
- Balat M., Balat H. (2010). "Progress in biodiesel processing" *Appl Energy* 87: 1815-1835.
- Barakos N., Pasiás S., Papayannakos N. (2008). "Transesterification of triglycerides in high and low quality oil feeds over an HT2 hydrotalcite catalyst" *Bioresource Technol* 99: 5037-5042.
- Bello Guitiérrez J. (2000). *Ciencia bromatológica*. Madrid: Díaz de Santos.
- Benjumea P.N., Agudelo J.R., Ríos L.A. (2009). *Biodiésel: Producción, calidad y caracterización*. Colombia: Editorial Universidad de Antioquía.
- Berchmans H.J., Hirata S. Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids". *Bioresour Technol* 99: 1716-1721.
- Bockish M. (1998) "Composition, structure, physical data and chemistry". En *Fats and Oils Handbook* (pp. 53-120). Illinois: AOCS Press.
- Borges M.E., Díaz L. (2012). "Recent developments on heterogeneous catalysis for biodiesel production by oil esterification and transesterification: A review" *Renew Sust Energ Rev* 16: 2839-2849.
- Bouaid A., Martínez M., Aracil J. (2007). "Long storage stability of biodiesel from vegetable and used frying oils" *Fuel* 86: 2596-2602.

- Burton R. (2008). "An overview of ASTM D6751: biodiesel standards and testing methods, alternative fuels consortium".
- Canakci M. (2007). "Combustion characteristics of turbocharged DI compression ignition engine fueled with petroleum diesel fuels and biodiesel" *Biores Technol* 98: 1167-1175.
- Cano Muñoz J.L. (2008). "Mecanismo, Función y Obtención de Alimentos Enriquecidos con Ácidos Grasos Omega-3". En *Boletín Oncológico del área sanitaria de Teruel*.
- Cao W., Han H., Zhang J. (2005). "Preparation of biodiesel from soybean oil using supercritical methanol and co-solvent" *Fuel* 84: 347-351.
- Castellar G., Angulo E.R., Cardozo B.M. (2014). "Transesterification vegetable oils using Heterogeneous catalysts" *Prospect* 12: 90-104.
- Chen B., Wang W., Ma X., Wang C., Li R. (2012). "Adsorption behaviours of glycerol from biodiesel on sulfonated polystyrene-divinylbenzene resins in different forms" *Energy Fuel* 26: 7060–7067.
- Chimi H., Cillard J., Cillard P., Rahmani M. (1991). "Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants" *J Am Oil Chem Soc* 68: 304-312.
- Coelho D.G., Almeida A.P., Soletti J.I., Carvalho S.H.V. (2011). "Influence of variable in the purification process of castor oil biodiesel" *Chem Eng Trans* 24: 829-834.
- Demirbas A. (2005). "Biodiesel production from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical methanol transesterification methods", *Prog Energy Combust Sci* 31:466-487.
- Demirbas A. (2009). "Progress and recent trends in biodiesel fuels", *Energ Convers Manage* 50: 14-24.
- Dmytryshyn S.L., Dalai A.K., Chaudhari S.T., Mishra H.K., Reaney M.J. (2004). "Synthesis and characterization of vegetable oil derived esters: evaluation for their diesel additive properties" *Bioresour Technol* 92: 55–64.
- Dorado M.P., Pinzi S., Haro Bailón A., Font R., García Olmo J. (2011). "Visible and NIR Spectroscopy to assess biodiesel quality: Determination of alcohol and glycerol traces" *Fuel* 90: 2321-2325.

- Dubé M.A., Tremblay A.Y., Liu J. (2007). “Biodiesel production using a membrane reactor” *Bioresour Tech* 98:639-647.
- Dunn R.O. (2005). Cold weather properties and performance of biodiesel. En *The Biodiesel Handbook* (pp. 83-121). Illinois: AOCS Press.
- Dunn R.O. (2012). “Effects of Monoacylglycerols on the cold flow properties of biodiesel” *J Am Oil Chem Soc* 89: 1509-1520.
- EPA (2002). A comprehensive analysis of biodiesel impacts on exhaust emissions. United Stated Environmental Protection Agency.
- Fan X., Wang X., Chen F. (2010). “Ultrasonically assisted production of biodiesel from crude cottonseed oil”. *Int J Green Energy* 7: 117-127.
- Fangrui M., Davis C.L., Hanna M.A. (1998). “Biodiesel fuel from animal fat. Ancillary studies on transesterification of beef tallow” *Ind Eng Chem Res* 37: 3768–3771.
- Freedman B., Pryde E.H., Mounts T.L. (1984) “Variables affecting the yields of fatty esters from tranesterified vegetable oils” *J Am Oil Chem Soc* 61: 1638-1643.
- Fukuda H., Kondo A., Noda H. (2001). “Biodiesel Ful Production by transesterification of Oils” *J Biosci Bioeng* 92: 405-416.
- Geller D.P., Adams T.T., Goodrum J.W., Pendergrass J. (2008). “Storage stability of poultry fat and diesel fuel mixtures: specific gravity and viscosity” *Fuel* 87: 92–102.
- Gog A., Roman M., Tosa M., Paizs C., Irimie F.D. (2012). « Biodiesel production using enzymatic transesterification-current state and perspectives » *Renew Energy* 39 :10-16.
- Gumus M., Sayin C., Canakci M. (2012). “The impact of fuel injection pressure on the exhaust emissions of a direct injection diesel engine fueled with biodiesel-diesel fuel blends” *Fuel* 95: 486-494.
- Haseeb A.S.M.A., Masjuki H.H., Ann L.J., Fazal M.A. (2010). “Corrosion characteristics of copper and leaded bronze in palm biodiesel” *Fuel Proces Technol* 91: 329–334.
- Hass M.J., McAloon A.J., Yee W.C., Fogli T.A. (2006). “A process model to estimate biodiesel production costs” *Bioresour Technol* 97: 671–678.
- Hoekman S., Robbins C. (2002). “Review of the effects of biodiesel on NOx emissions” *Fuel Process Technol* 96: 237-249.

Intenational Energy Outlook 2013, Noviembre 2013; disponible en www.eia.gov/forecasts/ieo.

Kamal-Edin A., Mäkinen M., Lampi A.M. (2003). "The Challenging Contribution of Hydroperoxides to the Lipid Oxidation Mechanism". En Lipid Oxidation Pathways. Illinois: AOCS Press.

Kiss A.A., Dimian A.C., Rothenberg G. (2006). "Solid acid catalysts for biodiesel production towards sustainable energy" Adv. Synth. Catal. 348: 75–81.

Kovarik B. (1998). "Henry Ford, Charles F. Kettering and the Fuel of the Future," Automotive History Review 32: 7 – 27.

Kulås E., Olsen E., Ackman R.G. (2003). "Oxidation of fish lipids and its inhibition with tocopherols". En A. Kamal-Eldin (Ed.), Lipid Oxidation Pathways (cap. 2). Illinois: Ed: AOCS Press.

Lamers P. (2012). « International biodiesel markets. Developments in production and trade», Report; disponible en <http://www.ecofys.com>.

Lang X., Dalai A.K., Bakhshi N.N., Reaney M.J., Hertz P.B. (2001) "Preparation and Characterization of Biodiesel from various Bio-Oils" Bioresour Technol 80: 53-62.

Lee I., Johnson L.A., Hammond E.G. (1995). "Use of branched-chain esters to reduce the crystallization temperatura of biodiesel" J Am Oil Chem Soc 72: 1155-1560.

López Granados M., Martín Alonso D., Sábada I., Mariscal R., Ocón P. (2009). "Leaching and homogeneous contribution in liquid phase reaction catalysed by solids: The case of triglycerides methanolysis using CaO", Appl Catal B-Environ 89: 265-272.

Ma F., Hanna M.A. (1999). "Biodiesel production: a review" Bioresour Tech 70:1-15.

Mallins K., Kampars V., Kampare R., Prilucka R., Brinks J., Murnieks R., Apsience L. (2014). "Properties of rapeseed oil fatty alkyl esters derived from different alcohols" Fuel 137: 28-35.

Marchetti J.M, Errazu A.F. (2008). "Technoeconomic study of supercritical biodiesel production plant" Energ Conv Manag 49: 2160-2164.

McCarthy P., Rasul M.G., Moazzem S. (2011). "Analysis and comparison of performance and emissions of an internal combustion engine fuelled with diesel and different bio-diesel" Fuel 90: 2174-2157.

-
- Monyem A. (1998). "The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions" Retrospective Theses and Dissertations. Paper 11950.
- Monyem A., Van Gerpen J.H. "The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions" Biomass Bioenerg 20: 317-325.
- Moser B. (2008). "Influence of blending canola, palm, soybean, and sunflower oil methyl esters of fuel properties of biodiesel" Energ Fuel 22: 4301-4306.
- Moser B.R. (2014). "Impact of fatty ester composition on low temperature properties of 9 biodiesel-petroleum diesel blends" Fuel 115: 500-506.
- Niki E., Yoshida Y., Saito Y., Noguchi N. (2005). "Lipid peroxidation: mechanism, inhibition, and biological effects" Biochem Biophys Res Commun 1: 668-676.
- NREL (2013). The effect of biodiesel composition on engine emissions from a DDC series 60 Diesel Engine. Informe Final.
- Olivetti E., Gülsen E., Malça J., Castanheira E., Freire F., Dias L., Kirchain R. (2014). "Impact of Policy on greenhouse Gas Emissions and Economics of Biodiesel Production", Environ Sci. Technol. 48: 7642-7650.
- Özgül-Yücel S., Türkay S. (2003). "Purification of FAME by rice hull ash adsorption" J Am Oil Chem Soc 80: 373-376.
- Palash S., Masjuki H., Kalam M., Masum B., Sanjid A., Abedin M. (2013). "State of the art of NOx mitigation technologies and their effect on the performance and emission characteristics of biodiesel-fuelled compression ignition engines" Energ Convers Manage 76: 400-420.
- Radich R. (2004) "Biodiesel Performance, Costs, and Use", Modeling and Analysis Papers, DOE/EIA; disponible en <http://www.eia.doe.gov/oiaf/analysispaper/biodiesel>.
- Rashid N., Saif Ur Rehman M., Sadiq M., Mahmood T., Han J. (2014). "Current status issues and developments in microalgae derived biodiesel production" Renew Sust Energ Rev 40: 760-778.
- RNE21. (2014). Global status report. Renewable Energy Policy Network for the 21st Century.
- Romano S.D., Sorichetti P.A. (2010). Dielectric Spectroscopy in Biodiesel Production and Characterization. Londres: Springer Verlag.

- Rosillo-Calle F., Walter A., Pelkmans L. (2009). “A global review of vegetable oils with respect to biodiesel” IEA Bioenergy Task 40.
- Saifuddin N., Chua K.H. (2004). “Production of ethyl ester (biodiesel) from used frying oil: optimization of transesterification process using microwave irradiation”. *Malaysian J Chem* 6: 77–82.
- Sanz M., Murga R., Beltran S., Cabezas J., Coca J. (2002). “Autocatalyzed and ion-exchange resin catalyzed esterification kinetics of lactic acid with metanol”. *Ind Eng Chem Res* 41: 512-517.
- Sarin A., Arora R., Singh N.P., Sarin R., Malhotra R.K., Kundu K. (2009). “Effect of blends of Palm-Jatropha-Pongamia biodiesels on cloud point and pour point” *Energy* 34: 2016-221.
- Sarin R., Sharma M., Sinharay S., Malhotra R.K. (2007). “Jatropha-Palm biodiesel blends: An optimum mix for Asia” *Fuel* 86: 1365-1371.
- Scott G. (1985). “Antioxidants In Vitro and In Vivo” *Chem. Brit.* 21: 648–653.
- Siler-Marinkovic S., Tomasevic A. (1998). “Transesterification of sunflower oil in-situ” *Fuel* 77: 1389-1391.
- Smith P.C., Ngothai Y., Nguyen Q.D., O'Neill B-K. (2010). “Improving the low-temperature properties of biodiesel: Methods and consequences” *Renew Energ* 35: 1145-1151.
- Solval K.M., Sathivel S. (2012). “Use of an adsorption process for purification of pollock-oil-based biodiesel comprises methylesters” *J Am Oil Chem Soc* 89: 1713–1721.
- Srivastava A., Prasad R. (2000). “Triglycerides-based diesel fuels” *Renew Sustain Energy Rev* 4: 111–133.
- Taufiq-Yap Y.H., Lee H.V., Hussein M.Z., Yunus R. (2011). “Calcium-based mixed oxide catalysts for methanolysis of *Jatropha curcas* oil to biodiesel” *Biomass Bioenerg* 35: 827-834.
- Tomasevic A., Siler-Marinkovic S. (2003). “Methanolysis of used frying oil” *Fuel Process Technol* 81: 1-6.
- USDA GAIN (2014a). EU28 Biofuels Annual Report, USDA'S Global Agriculture Information Network, disponible en <http://www.gain.fas.usda.gov>.

- USDA GAIN (2014b). UUEE Biofuels Annual Report, USDA'S Global Agriculture Information Network, disponible en <http://www.gain.fas.usda.gov>.
- USDA GAIN (2014c) Canada Biofuels Annual Report, USDA'S Global Agriculture Information Network, disponible en <http://www.gain.fas.usda.gov>.
- USDA GAIN (2014d). Argentina Biofuels Annual Report, USDA'S Global Agriculture Information Network, disponible en <http://www.gain.fas.usda.gov>.
- USDA GAIN (2014e). Indonesia Biofuels Annual Report, USDA'S Global Agriculture Information Network, disponible en <http://www.gain.fas.usda.gov>.
- USDA GAIN (2014f). Thailand Biofuels Annual Report, USDA'S Global Agriculture Information Network, disponible en <http://www.gain.fas.usda.gov>.
- USDA GAIN (2014g). Malaysia Biofuels Annual Report, USDA'S Global Agriculture Information Network, disponible en <http://www.gain.fas.usda.gov>.
- Van Gerpen J., Knothe G. (2005) Biodiesel Production. En The Biodiesel Handbook (pp. 26-61). Illinois: AOCS Press.
- Wang Y., Wang X., Liu Y., Ou S., Tan Y., Tang S. (2009) "Refining of biodiesel by ceramic membrane separation" Fuel Process Technol 90: 422-427.
- Xue J., Grift T., Hansen A. (2011). "Effect of biodiesel on engine performances and emissions" Renew Sust Energ Rev 15: 1098-1116.
- Yaakob Z., Mohammad M., Alherbawi M., Alam Z., Sopian K. (2013). "Overview of the production of biodiesel from waste cooking oil" Renew Sust Energ Rev 18: 184-193.
- Yin J.Z., Xiao M., Song J.B. (2008). "Biodiesel from soybean oil in supercritical methanol with co-solvent" Energ Convers Manage 49: 908-912.
- Yori J.C., D'Ippolito S.A., Pieck C.L., Vera C.R. (2007). "Deglycerolization of biodiesel streams by adsorption over silica beds" Energ Fuel 21: 347-353.

II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

El trabajo de investigación presentado en esta memoria aborda como objetivo general el estudio de diferentes materias primas para la producción de biodiesel. Desde el punto de vista tecnológico, el biodiesel presenta dos desventajas principales frente al diésel convencional: su facilidad para sufrir reacciones de oxidación y los elevados puntos de congelación. Ambas dependen en gran medida de la materia prima empleada y provocan problemas de funcionamiento en motores. En este contexto, la investigación llevada a cabo se centrará en los siguientes objetivos particulares:

- Estudiar de la efectividad de 4 aditivos antioxidantes comerciales en retrasar los procesos oxidativos del biodiesel procedente de aceites vegetales convencionales (soja, colza, girasol y palma).
- Analizar del efecto de la purificación con ácido cítrico en la estabilidad a la oxidación.
- Evaluar de la efectividad de los aditivos en retrasar la oxidación de muestras durante su almacenamiento.

Para esta primera parte se ha seguido la siguiente metodología:

- obtención de biodiesel a partir de cada uno de los aceites vegetales mencionados mediante una transesterificación básica homogénea a 60°C, con relación molar metanol: aceite de 6:1 y 1% de concentración de catalizador.
- purificación de los ésteres metílicos mediante dos procesos diferenciados: lavado con agua destilada y lavado con disolución 0.1 M de ácido cítrico.
- medición de las propiedades del biodiesel resultante: contenido en ésteres metílicos, acidez, índice de peróxidos, índice de yodo, humedad, viscosidad, estabilidad a la oxidación, etc.
- adición de aditivos antioxidantes en concentraciones de 250 a 5000 ppm, y análisis de la estabilidad a la oxidación.
- adición de cobre sólido en diferentes concentraciones a biodiesel de aceite de colza. Comparación de los resultados de estabilidad a la oxidación en función de la concentración de cobre y del agente de lavado empleado en la purificación del biodiesel (agua destilada o solución de ácido cítrico).
- determinación de la estabilidad a la oxidación de las muestras tras 6 meses de almacenamiento.

2. Objetivos y plan de trabajo

- Determinación de la influencia de los ácidos grasos que componen la materia prima en la estabilidad a la oxidación y punto de congelación del biodiesel resultante. En el presente estudio, se emplean además de aceites convencionales (soja, colza, girasol y palma) aceite de coco y babaçu, con un contenido significativo de ácidos grasos saturados de cadena corta (entre 4 y 14 átomos de carbono). Para ello, el plan de trabajo seguido es el siguiente:
- obtención de biodiesel a partir de los aceites de soja, colza, girasol, palma, coco y babaçu, mediante transesterificación básica homogénea a 60°C, con relación molar metanol: aceite de 6:1, 1% de concentración de catalizador y purificación con disolución 0.1 M de ácido cítrico.
 - medición de las propiedades de cada una de las muestras de biodiesel resultante: contenido en ésteres metílicos, acidez, índice de peróxidos, humedad, índice de yodo, viscosidad, propiedades de funcionamiento en frío, estabilidad a la oxidación, etc.
 - realización de mezclas de biodiesel para obtener un muestras con diferente perfil de ésteres metílicos. Medición de la estabilidad a la oxidación y del punto de obstrucción de filtros en frío.
 - análisis de los resultados y correlación de las propiedades con la distribución de los diferentes tipos de ésteres metílicos.

Esta primera parte descrita se desarrolló en su totalidad en el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Complutense de Madrid (UCM).

Además, en este trabajo se incluye el estudio de la obtención de biodiesel a partir de aceite de salmón considerado residuo del procesado de este pescado. Este estudio se llevó a cabo en el Departamento de Ciencias Matemáticas y Tecnología de la Norwegian Life Sciences University (NMBU).

Como ya ha sido descrito en el capítulo anterior, cada vez se están haciendo más esfuerzos hacia la promoción del uso de materias primas que no compitan con cultivos destinados para alimentación, y que no impliquen un cambio indirecto del uso de suelo. En este contexto pueden englobarse los aceites de fritura usados o subproductos generados en el procesado de grasas de origen animal y vegetal. Este aceite fue obtenido a partir de ensilado de salmón, mediante el uso de una centrífuga trifásica. Al no sufrir ningún proceso de refinado posterior, contaba con una concentración de ácidos grasos libres en torno al 8%, por lo que fue necesaria una etapa previa de esterificación ácida, donde los ácidos grasos libres reaccionan con

metanol para formar ésteres metílicos. Los objetivos específicos en base a esta investigación son los siguientes:

- Optimización de la reacción de esterificación ácida, mediante un diseño de experimentos y la metodología de superficies de respuesta. Estudio de la influencia de la temperatura, cantidad de metanol y tiempo de reacción. Para ello se procedió de la siguiente manera:
 - realización de reacciones de esterificación del aceite de salmón variando la temperatura de reacción (T) entre 308 y 338 K, relación molar metanol:aceite (RM) entre 1:1 y 11:1 y el tiempo de reacción (t) desde 40 hasta 140 minutos.
 - cálculo de la conversión final de ácidos grasos a partir de las mediciones de acidez de las muestras.
 - obtención de modelo que prediga los resultados experimentales con precisión.

- Modelado cinético de la reacción de esterificación. Determinación de los parámetros cinéticos de la esterificación ácida de los ácidos grasos libres de aceite de salmón, mediante ajuste matemático de los datos experimentales.
 - realización de reacciones de esterificación de aceite de salmón variando la concentración de catalizador (1-5%), la temperatura (314-332 K) y la relación molar metanol:aceite (3:1-9:1).
 - medición de la evolución de la acidez.
 - ajuste matemático de los datos experimentales al modelo cinético propuesto.

- Obtención de ésteres metílicos de aceite de salmón, mediante las dos etapas consecutivas de esterificación-transesterificación, para evaluar sus propiedades como combustible. Para ello fue necesario:
 - obtención de biodiesel de salmón a partir de las etapas de esterificación ácida (55°C, relación molar metanol:aceite 6:1, 3% catalizador) y posterior transesterificación básica (60°C, relación molar metanol:aceite 6:1, 1% catalizador).
 - medición de las propiedades del biodiesel resultante: viscosidad, índice de yodo, acidez, punto de inflamación, estabilidad a la oxidación, propiedades de funcionamiento en frío, humedad, etc.

III. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1. Estudio de la estabilidad a la oxidación: influencia de la materia prima, agente de lavado y aditivos antioxidantes.....	75
3.1.1. Obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales	75
3.1.1.1. Reacción de transesterificación	75
3.1.1.2. Lavado de los ésteres metílicos	80
3.1.1.3. Destilación.....	82
3.1.2. Adición de aditivos antioxidantes	83
3.1.3. Estudio de la oxidación en presencia de cobre.....	84
3.1.4. Almacenamiento de las muestras	85
3.2. Estudio de la influencia de la composición de aceites en las propiedades del biodiesel	85
3.2.1. Obtención de biodiesel.....	85
3.2.2. Mezclado de ésteres metílicos.....	86
3.3. Obtención de biodiesel a partir de aceite de salmón	86
3.3.1. Esterificación de aceite de salmón	86
3.3.1.1. Reacción de esterificación	86
3.3.2. Obtención de biodiesel de aceite de salmón	91
3.3.2.1. Esterificación del aceite de salmón	91
3.3.2.2. Transesterificación del aceite de salmón esterificado	93
3.4. Referencias.....	94

En esta sección se describen las instalaciones empleadas para realizar la experimentación, así como reactivos y condiciones de operación.

Se divide en tres partes principales, correspondiendo a cada uno de los diferentes aspectos abordados en este estudio, descritos en el plan de trabajo.

3.1. Estudio de la estabilidad a la oxidación: influencia de la materia prima, agente de lavado y aditivos antioxidantes

Esta primera parte consiste en la obtención de biodiesel a partir de diferentes aceites vegetales, para analizar la estabilidad a la oxidación. Se estudió también la influencia del agente de lavado en la purificación de los ésteres metílicos, por lo que se realizaron dos procesos: lavado con agua destilada y lavado con disolución de ácido cítrico.

3.1.1. Obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales

La conversión de aceites vegetales a ésteres metílicos comprende las etapas de reacción de transesterificación, lavado y destilación.

3.1.1.1. Reacción de transesterificación

➤ DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN

REACTOR

El sistema de reacción está compuesto por un reactor tanque cilíndrico encamisado de vidrio Pyrex de 3000 cm³ de capacidad. El reactor cuenta con una válvula de vaciado en la parte inferior. La tapa de vidrio del reactor cuenta con 4 bocas esmeriladas para la colocación de diferentes elementos:

- a) Cesta de agitación para la colocación el sistema de agitación
- b) Refrigerante de vidrio para evitar la evaporación del metanol
- c) Carga de los reactivos al comienzo de la reacción mediante la colocación de un embudo y toma de muestras en el transcurso de la reacción (o durante las operaciones de lavado y destilado)

La instalación empleada para la reacción de transesterificación se muestra en la figura 3.1.

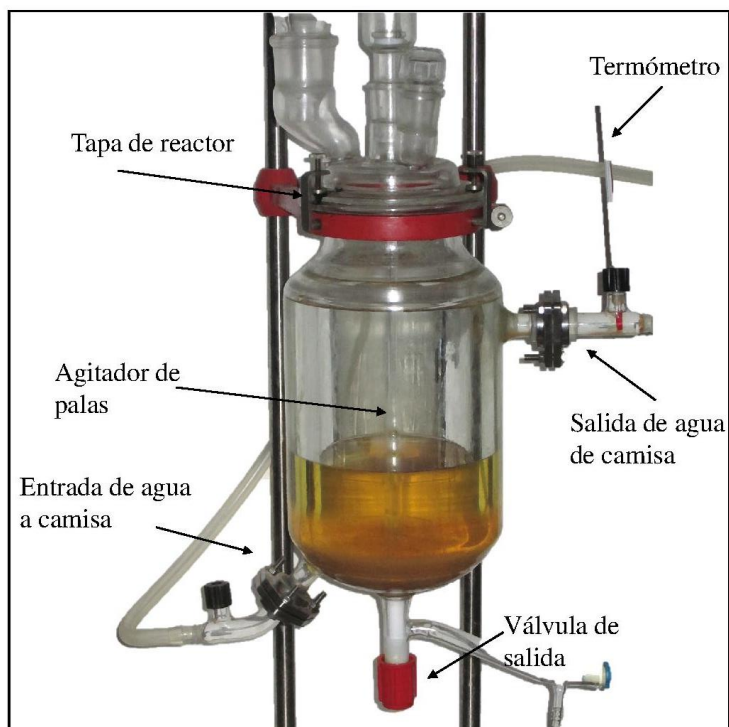


Figura 3.1. Instalación empleada para la reacción: reactor.

SISTEMA DE CALEFACCIÓN

El recipiente cuenta con una camisa externa, por la que se hace circular agua para conseguir el calentamiento de la mezcla de reacción. El agua circula desde un baño termostático en circuito cerrado. En este equipo, la temperatura se estabiliza y se mantiene constante en el valor elegido mediante un termostato marca TECHNE TE-10A, trabajando así en condiciones isotermas, no permitiéndose variaciones de la misma mayores de 0.2°C . El termostato cuenta por una bomba rotatoria de 2700 rpm, responsable de producir la turbulencia necesaria para mantener la temperatura uniforme en el sistema de calefacción. La instalación cuenta con un termómetro que indica la temperatura del agua a la salida de la camisa.

SISTEMA DE AGITACIÓN

Es necesaria una buena agitación para poder considerar que se trabaja en régimen de mezcla completa. Para asegurar una buena turbulencia de la mezcla de reacción se emplea un agitador de palas de 4 aspas (de 2.5 cm de largo cada aspa) que se coloca a una distancia del fondo del recipiente de unos 4 cm. El agitador está conectado a un motor Eurostar BASIC IKA que permite la visualización y regulación de la agitación, permitida en el rango de 50-2000 rpm. El detalle de la tapa del reactor aparece en la figura 3.2.

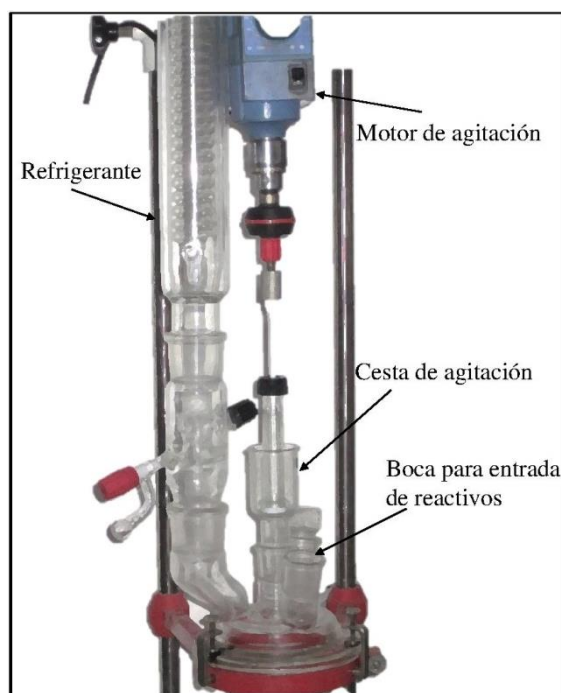


Figura 3.2. Instalación empleada para la reacción: tapa del reactor y otros elementos.

➤ MATERIAS PRIMAS Y REACTIVOS

✓ Aceites de origen vegetal: se emplearon aceites procedentes de varias materias primas que han sufrido proceso de refino, incluyendo neutralización, decoloración y desodorización. Fueron suministrados por Gracomsa Alimentaria (Valencia, España). Las propiedades que se muestran para cada uno de los aceites empleados son las proporcionadas por la empresa suministradora en la hoja de especificaciones.

Propiedad	Soja	Colza	Girasol alto oleico	Palma
Acidez (% ácido oleico)	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.2	≤ 0.1
Índice de peróxidos (meq O ₂ /kg grasa)	≤ 3			≤ 3
Color (Gardner)	≤ 2			3-4
Punto de fusión (°C)				23-27
Índice de yodo (gI ₂ /100 g grasa)		132-135		55-60
Índice de saponificación				195-200
Antioxidante E-304 y E-306 (ppm)	200	200	200	200

Tabla 3.1 Especificaciones de los aceites vegetales.

3. Procedimiento experimental

✓ Alcohol: el alcohol empleado fue metanol suministrado y certificado por Cor Química (España) de pureza 99.8%.

Metanol	
Pureza (%)	99.8
Estado físico	líquido
Color	incoloro
Viscosidad a 20°C (mPa·s)	0.74
Densidad a 20°C (kg/m ³)	792
Punto de ebullición (°C) a 760 mm Hg	64.5

Tabla 3.2 Especificaciones del metanol.

✓ Catalizador: el catalizador empleado es metóxido potásico (CH₃OK) suministrado por BASF Ibérica (España).

Metóxido potásico	
Pureza (% diluido en metanol)	32
Estado físico	líquido
Color	incoloro/amarillo
Viscosidad a 20°C (mPa·s)	18
Densidad a 20°C (kg/m ³)	973
pH	11

Tabla 3.3 Especificaciones del metóxido de potasio.

➤ PROCEDIMIENTO Y CONDICIONES DE OPERACIÓN

Puesto que el objeto de este estudio se basa en las propiedades de los ésteres metílicos obtenidos y en su posible utilización como combustible de motores diésel, las condiciones de operación se han escogido de manera tal que aseguren una elevada conversión y la obtención de un producto sin componentes secundarios causados por una reacción incompleta o un proceso de purificación (lavado y destilación) ineficaces.

La metanolisis básica homogénea es el método más empleado para la producción de biodiesel, y el que ha sido objeto de mayor número de estudios.

En general, la relación molar entre el alcohol y el aceite más empleada ha sido de 6:1. La relación estequiométrica es de 3:1, sin embargo, la alcoholisis es una reacción reversible, por lo que se emplea un exceso de metanol para desplazar la reacción hacia la formación de productos.

La temperatura es un parámetro muy influyente en la transesterificación. En las regiones donde hay transferencia de masa (interfase triglicérido-metanol), un aumento de temperatura provoca que las moléculas tengan un estado de energía mayor, favoreciendo la vibración y el movimiento de una fase a otra. En las regiones controladas por la reacción química, la constante de velocidad aumenta con la temperatura según la ecuación de Arrhenius. Sin embargo, la temperatura debe mantenerse por debajo del punto de ebullición del alcohol empleado (65 y 72°C para el metanol y el etanol, respectivamente). De esta manera se evitan pérdidas por evaporación y se asegura que el alcohol se mantiene en estado líquido.

Para ilustrar mejor la influencia de las variables de operación en la metanolisis de triglicéridos, se muestran en la figura 3.3 las gráficas de contorno resultantes del diseño factorial empleado para la optimización de la producción de biodiesel a partir de aceite de girasol (Vicente et al., 2007).

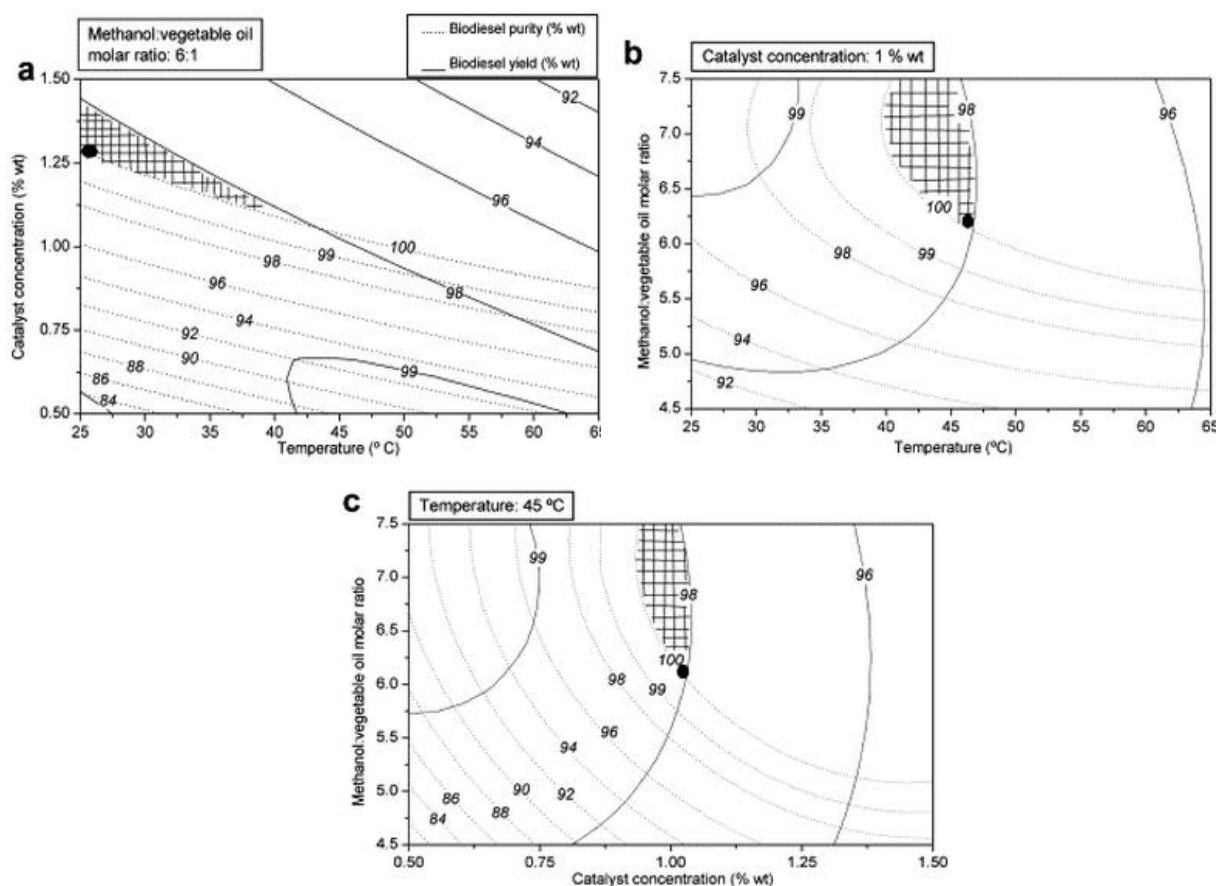


Figura 3.3. Gráficas de contorno resultantes del diseño de experimentos aplicado a la optimización de la producción de biodiesel a partir de aceite de girasol (Vicente et al., 2007).

La reacción de transesterificación se llevó a cabo a una temperatura de 60°C, con una relación molar metanol:aceite de 6:1, y una cantidad de catalizador de 1%, calculado respecto al peso de aceite empleado. La velocidad de agitación se estableció en 600 rpm, fruto de previas investigaciones realizadas para optimizar la velocidad de agitación asegurando que los fenómenos de transferencia de materia son despreciables frente a la etapa constituida por la reacción química (Coteron et al., 1997). El aceite es añadido y llevado hasta la temperatura de reacción. Una vez alcanzada, se añade el metanol y el catalizador, que han sido previamente mezclados en frío y con ayuda de una placa de agitación electromagnética. La reacción se deja transcurrir durante un tiempo de 10 minutos. Se suspende la agitación y se permite que la glicerina generada decante por gravedad en el fondo del reactor. Transcurridos otros diez minutos y cuando se identifican claramente dos fases, se abre la válvula de salida del fondo del reactor para retirar la glicerina. Se repite este mismo proceso dos veces, siendo el producto final el resultante de 30 minutos totales de reacción y 30 minutos totales de decantación.

3.1.1.2. Lavado de los ésteres metílicos

➤ DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN

El lavado de la mezcla de reacción se realiza en el mismo recipiente donde ha tenido lugar la reacción. En la parte superior se colocan en las bocas esmeriladas dos embudos de adición de 250 cm³ que cuentan con válvula para poder ajustar el caudal de agua que entra en el reactor (ver figura 3.4). La agitación durante el lavado debe ser baja, para evitar la formación de posibles emulsiones.



Figura 3.4. Instalación empleada para el lavado: tapa del reactor y otros elementos.

➤ REACTIVOS

✓ Ácido cítrico monohidratado ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$), suministrado por Sigma Aldrich (España).

Ácido cítrico monohidratado	
Peso molecular	210
Estado físico	sólido cristalino
Color	blanco
Punto de inflamación (°C)	173.9
Densidad aparente a 20°C (kg/m ³)	900

Tabla 3.4 Especificaciones del ácido cítrico.

✓ Azul de bromotimol

➤ PROCEDIMIENTO Y CONDICIONES DE OPERACIÓN

En el mismo reactor se procede al lavado con agua, ya que la fase de los ésteres metílicos contiene además mono-, di- y triglicéridos, restos de catalizador, glicerol y posibles trazas de jabón formado mediante la reacción de saponificación entre ácidos grasos libres y el catalizador.

3. Procedimiento experimental

Este lavado se realizó con dos agentes de lavado diferentes: agua destilada y disolución 0.1 molar de ácido cítrico monohidratado.

El lavado de los ésteres metílicos se realizó con el uso de frascos lavadores, que se colocan en la parte superior del reactor y se regula la válvula de manera que se produzca un goteo constante de agua. La agitación en este proceso debe permitir que las gotas sean distribuidas de manera uniforme, pero evitando la formación de emulsiones que dificultan la separación. Se fija una velocidad de agitación de 200 rpm.

Para saber si el biodiesel ha sido lavado, se realiza una medida del pH del mismo. Mediante una pipeta, se extraen del reactor 10 ml de la mezcla de reacción, a los que se añaden 10 ml de acetona y unas gotas de indicador azul de bromotimol. A pH básico, el color de la mezcla es azul añil. Cuando se produce el viraje a amarillo (el viraje del indicador se produce en un rango de pH de 6-7.6), el pH de la mezcla es ácido, con lo que podemos asegurarnos que se han eliminado las impurezas mediante el lavado (mayoritariamente jabones y restos de catalizador).

El agua de lavado se elimina por decantación tras parar la agitación, permitiendo la decantación por gravedad.

3.1.1.3. Destilación

La destilación de los ésteres metílicos se realiza para disminuir por debajo del máximo nivel permitido las concentraciones de agua y metanol.

➤ DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN

El secado se realiza una vez más en el mismo reactor, con ayuda de un sistema de vacío. Este sistema cuenta con una bomba EDWARDS RV-3, una válvula reguladora de presión y un vacuómetro de columna de mercurio. La salida del reactor está conectada a una trampa fría (también llamado lavado de gases), sumergida en aire líquido dentro de un vaso Dewar. En esta trampa se produce la condensación de los volátiles que abandonan el reactor, evitando así que los volátiles (agua y metanol) puedan pasar a la bomba de destilación.

➤ PROCEDIMIENTO Y CONDICIONES DE OPERACIÓN

El agua y metanol presentes en los ésteres se eliminan mediante destilación a vacío moderado. Primeramente, se aumenta en el baño la temperatura hasta 80°C. Cuando se ha alcanzado este valor, se conecta mediante una goma la salida del refrigerador situado en la tapa del reactor con la trampa fría. Se colocan los tapones de vidrio con grasa de alto vacío en las demás bocas esmeriladas de la tapa de reactor. El vacío aplicado es de 10 mm Hg.

Para monitorizar el proceso de destilación, se analiza el contenido en agua. La toma de muestras se realiza parando la bomba de destilación e introduciendo una pipeta completamente seca por la boca esmerilada de entrada de reactivos y toma de muestras. Se analiza su contenido en agua mediante el método que se especifica en la sección 4.2.2. *Determinación del contenido en agua*. El proceso se lleva a cabo hasta que este valor sea inferior a 500 ppm (0.05 % m/m). Normalmente, se precisan entre 20 y 40 minutos para alcanzar dicho valor.

3.1.2. Adición de aditivos antioxidantes

➤ REACTIVOS

- ✓ Aditivos antioxidantes: a continuación se muestra una descripción de los aditivos empleados.
 - Aditivo 1: fenol impedido. Está compuesto principalmente por un fenol impedido, 2,6-di-tert-butilfenol (2,6-DBT), con un grupo hidroxilo. Se emplea tanto como antioxidante como compuesto de partida para otros antioxidantes fenólicos.
 - Aditivo 2: fenol impedido/amina. Está compuesto por el 2,6-DBT y una amina, etoxiquina (6-etoxi-1,2-dihidro-2,2,4-trimetilquinolina). Algunos productos derivados de la oxidación de la etoxiquina también tienen propiedades antioxidantes.
 - Aditivo 3: galato de propilo. El compuesto principal del aditivo 3 es el galato de propilo (3,4,5-trihidroxibenzoato). Es un polvo blanco cristalino poco soluble en agua. También contiene palmitato de ascorbilo.
 - Aditivo 4: mezcla de tocoferoles. Cuenta en su composición con una mezcla de isómeros de tocoferoles, así como galato de propilo y palmitato de ascorbilo.

3. Procedimiento experimental

Todos los aditivos empleados se encuentran en estado líquido y se conservan en una nevera a 4°C para evitar su degradación por efecto de la temperatura. Sus propiedades y composición se muestran en la tabla 3.5.

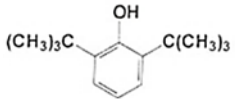
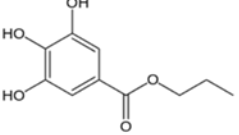
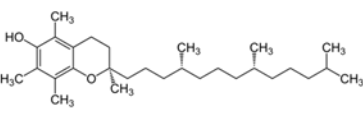
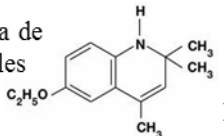
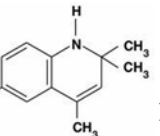
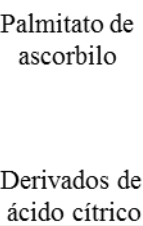
	AO1	AO2	AO3	AO4
	Fenol impedido	Fenol impedido y amina	Galato de propilo	Mezcla de tocoferoles
Compuesto principal	2,6-Di-tert-butilfenol 	2,6-Di-tert-butilfenol	Galato de propilo 	Mezcla de tocoferoles 
Otros compuestos	Mezcla de fenoles 	Etoxiquina 	Palmitato de ascorbilo 	Galato de propilo Palmitato de ascorbilo Derivados de ácido cítrico
Propiedades				
Densidad (g/l, 20°C)	0.93-0.95	1.03	-	-
Viscosidad (mPa·s, 25°C)	19	1800	-	-
Punto de ebullición (°C)	224-264	224-264	-	-

Tabla 3.5. Componentes y propiedades de los aditivos antioxidantes empleados.

➤ PROCEDIMIENTO

Los aditivos fueron añadidos con ayuda de una pipeta o de una espátula a un vaso de precipitado en una balanza de precisión. A este vaso, se le añadió posteriormente 50 ml de biodiesel y se procedió a agitación manual para asegurar una buena homogeneización del aditivo.

3.1.3. Estudio de la oxidación en presencia de cobre

➤ REACTIVOS

Para estudiar la oxidación del biodiesel de colza en presencia de metales, se empleó cobre metálico.

➤ PROCEDIMIENTO

Se introdujo la cantidad de cobre en los tubos de ensayo donde se realiza el ensayo para determinar la estabilidad a la oxidación de la muestra (ver sección 4.2.11).

3.1.4. Almacenamiento de las muestras

Las muestras de biodiesel fueron almacenadas en botellas de vidrio opaco de 250 ml. Se almacenaron en un armario, fuera del alcance de la luz, que no contaba con ningún sistema de calefacción o refrigeración. Para el estudio de la estabilidad a la oxidación tras el almacenamiento prolongado (6 meses) se emplearon las muestras sin aditivos y las muestras que contenían 1000 ppm de aditivos.

3.2. Estudio de la influencia de la composición de aceites en las propiedades del biodiesel

En este estudio se emplearon además de los aceites vegetales descritos en la sección 3.1, otros aceites de origen vegetal no convencionales suministrados por Iberdrola S.A (España).

3.2.1. Obtención de biodiesel

El proceso llevado a cabo fue idéntico al descrito en el apartado 3.1.1. *Obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales*, con idénticas etapas de transesterificación, lavado (con disolución 0.1M de ácido cítrico) y destilación. En la tabla 3.6 se muestran las propiedades del aceite de coco y babaçu empleados.

Propiedad	Babaçu	Coco
Acidez (% ácido oleico)	< 0.1	< 0.15
Índice de Yodo (g I ₂ /100 g)	13-17	6-11
Punto de fusión (°C)	20-22	≤ 6
Humedad (%)	trazas	trazas
Densidad	0.915-0.920	0.921

Tabla 3.6 Especificaciones del aceite de babaçu y coco.

3.2.2. Mezclado de ésteres metílicos

Una vez obtenidos los ésteres metílicos de los 6 aceites vegetales (soja, colza, girasol alto oleico, palma, babaçu y coco) se mezclaron en diferentes proporciones para poder analizar la influencia del perfil lipídico en diferentes propiedades. Cada mezcla contenía un total de 250 ml de ésteres metílicos, y se guardaron en botellas de cristal opacas hasta el momento de analizar sus propiedades.

3.3. Obtención de biodiesel a partir de aceite de salmón

A continuación se describe el procedimiento experimental empleado para el estudio de la obtención de biodiesel a partir de aceite de salmón.

3.3.1. Esterificación de aceite de salmón

Las reacciones de esterificación de aceite de salmón se llevaron a cabo en el Departamento de Ciencias Matemáticas y Tecnología de la Universidad Noruega de Ciencias de la Vida (Norwegian University of Life Sciences, NMBU) en Ås, Noruega.

3.3.1.1. Reacción de esterificación

➤ DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN

REACTOR

La reacción de esterificación se llevó a cabo en un reactor cilíndrico encamisado de vidrio de 500 cm³ de capacidad. La instalación se muestra en la figura 3.5. La tapa de vidrio del reactor cuenta con tres bocas esmeriladas, una de ellas permanentemente sellada. Las otras dos se empleaban para:

- a) carga de reactivos y toma de muestras.
- b) acoplamiento de un termómetro electrónico de contacto, conectado a una placa de agitación sobre la que se dispone el reactor.

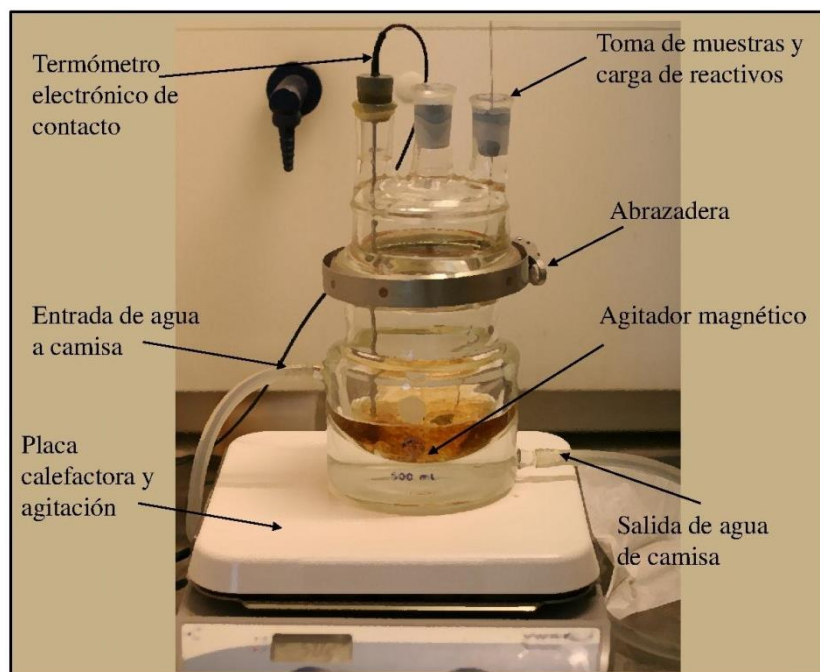


Figura 3.5 Instalación del reactor cilíndrico empleado en la esterificación. Imagen adaptada de Hykkerud, 2015.

SISTEMA DE CALEFACCIÓN

El recipiente cuenta con una camisa externa, por la que se hace circular agua para conseguir el calentamiento de la mezcla de reacción. El agua circula desde un baño termostático en circuito cerrado. En este equipo, mostrado en la figura 3.6, la temperatura se estabiliza y se mantiene constante en el valor elegido mediante un termostato de inmersión, trabajando así en condiciones isotermas.



Figura 3.6. Baño termostático con bomba para recirculación de agua. Imagen adaptada de Hykkerud, 2015.

3. Procedimiento experimental

SISTEMA DE AGITACIÓN

El reactor se colocó sobre un agitador magnético digital con placa calefactora (figura 3.7), marca IKAMAG, modelo C-MAG HS 10. Permite variar la agitación de grandes volúmenes de líquido, en un rango desde 100 a 1500 rpm.



Figura 3.7. Placa calefactora y de agitación (sólo es empleada para la agitación de la mezcla de reacción). Imagen adaptada de Hykkerud, 2015.

➤ REACTIVOS

✓ Aceite de salmón: suministrado por la empresa Akva-Ren NA (Furuflaten, Noruega). Este aceite había sido obtenido de ensilado de salmón mediante el uso de una centrífuga trifásica, y no fue sometido a ningún tratamiento ni refino.

Aceite de salmón	
Acidez (% ácido oleico)	11.0 (\pm 1.67)
Calor específico superior (MJ/kg)	39.45
Materia seca (%)	99.5
Carbono (%)	77.0
Hidrógeno (%)	11.52
Oxígeno (%)	10.93

Tabla 3.7. Especificaciones proporcionadas por el suministrador del aceite de salmón.

La acidez se determinó en el laboratorio mediante valoración manual y con un valorador automático, resultando un valor de acidez de **8.35%**, que será el valor de referencia en este estudio.

✓ Alcohol: el alcohol empleado fue metanol suministrado y certificado por Sigma Aldrich (Noruega) de pureza 99.8%.

✓ Catalizador: el catalizador empleado en la esterificación es ácido sulfúrico de pureza 95-98% suministrado también por Sigma Aldrich (Noruega).

Ácido sulfúrico	
Pureza (%)	95-98
Estado físico	líquido
Color	incoloro
Peso molecular	98
Densidad aparente a 25°C (kg/m ³)	1840

Tabla 3.8. Especificaciones del ácido sulfúrico.

➤ PROCEDIMIENTO Y CONDICIONES DE OPERACIÓN

Las condiciones de operación se establecieron en base a previos estudios en la esterificación de materias primas con elevado contenido en ácidos grasos libres. La temperatura máxima de operación corresponde al punto de ebullición del metanol (65°C).

En algunos estudios se emplean grandes cantidades de metanol, obteniendo conversiones elevadas (Berchmans e Hirata, 2008). Sin embargo, con menores cantidades de metanol se obtienen conversiones aceptables para realizar una posterior transesterificación básica. El ratio molar metanol: aceite de 6:1 es un valor empleado comúnmente en la esterificación previa (García-Moreno et al., 2014; El-Mashad et al., 2008; Zhang et al., 2003).

La cantidad de catalizador (ácido sulfúrico) se fijó en un 3% en peso respecto al aceite. La cantidad de catalizador influye sobre todo en las primeras etapas de la reacción. La conversión alcanzada a tiempos elevados no se ve influenciada por esta variable (Marchetti y Errazu, 2008; Farag et al., 2011).

El aceite de salmón es primeramente añadido al reactor para que alcance la temperatura de operación establecida, que dependerá de cada experimento. El ácido sulfúrico y el metanol se mezclan en un vaso de precipitado y se añaden al reactor una vez se considere que la temperatura del aceite se ha estabilizado. La velocidad de agitación se estableció en 300 rpm, ya que a partir de este valor no se observa ningún beneficio en la reacción (Farag et al., 2011).

3.3.1.2. Toma de muestras y separación de fases

➤ DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN

Para el seguimiento de la reacción de esterificación, se tomaron muestras con un pipeteador electrónico. La muestra (entre 3 y 4 ml) se introduce en un tubo de ensayo de plástico y se añade agua destilada agitando manualmente.

CENTRIFUGADO

El centrifugado de las muestras se realizó con una centrifugadora de laboratorio marca Eppendorf, modelo 5702 (figura 3.8).

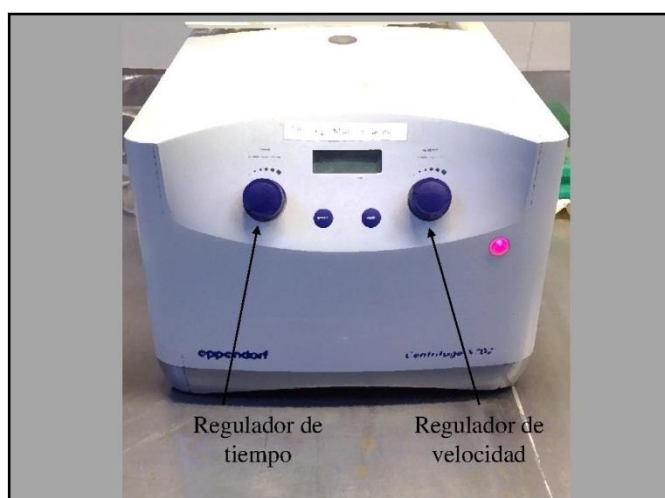


Figura 3.8. Centrifugadora de laboratorio. Imagen adaptada de Hykkerud, 2015.

➤ PROCEDIMIENTO Y CONDICIONES DE OPERACIÓN

Este procedimiento se realiza antes del análisis de las muestras. La mezcla de reacción estará compuesta por triglicéridos, ácidos grasos libres, ésteres metílicos, ácido sulfúrico y metanol. El agua destilada añadida sirve para favorecer la separación del metanol y ácido sulfúrico. Los tubos de ensayo se introducen en la centrífuga, donde se fija una velocidad de 1500 rpm y se establece un tiempo de centrifugado de 20 min. En un principio, se realizó a 2000 rpm; sin embargo, a esta velocidad los tubos de ensayo chocaban unos con otros y se rompían durante la centrifugación, lo que hacía imposible recuperar la muestra para su análisis. A 1500 rpm se evitaba este problema. Una vez realizada la centrifugación se distinguen claramente dos fases: una superior compuesta por triglicéridos, ésteres metílicos y ácidos grasos libres no reaccionados, y una inferior acuosa que contiene el metanol y ácido sulfúrico.

3.3.2. Obtención de biodiesel de aceite de salmón

La transesterificación del aceite de salmón se llevó a cabo en el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Complutense de Madrid. Previo a la transesterificación, se realizó una esterificación con el fin de disminuir la cantidad de ácidos grasos libres.

3.3.2.1. Esterificación del aceite de salmón

La esterificación engloba las operaciones de reacción, lavado de los ésteres metílicos para eliminar el ácido sulfúrico que ha sido empleado como catalizador, y destilación para eliminar la humedad.

REACCIÓN DE ESTERIFICACIÓN

➤ DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN

El reactor empleado, sistema de calefacción y agitación es el mismo utilizado para la transesterificación de aceites vegetales, descrito en el apartado 3.1.1.1. *Reacción de transesterificación*.

➤ REACTIVOS

- ✓ Aceite de salmón (ver tabla 3.7)
- ✓ Alcohol: el alcohol empleado fue metanol suministrado y certificado por Cor Química (España) de pureza 99.8%.
- ✓ Catalizador: el catalizador empleado es ácido sulfúrico suministrado por BASF Ibérica (España).

➤ PROCEDIMIENTO Y CONDICIONES DE OPERACIÓN

Se introdujo el aceite de salmón (800 ml) en el reactor. La temperatura establecida fue de 55°C. Una vez estabilizada la temperatura, se añadió con ayuda de un embudo la mezcla metanol-catalizador previamente mezclada. La relación molar de metanol empleada fue de 6:1 y una concentración de catalizador del 3% en peso. La velocidad de agitación fue de 600 rpm y el tiempo de reacción fue de 1 hora.

LAVADO DEL ACEITE ESTERIFICADO

➤ DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN

La instalación empleada para el lavado del aceite esterificado ha sido descrita en el apartado 3.1.1.2. *Lavado de los ésteres metílicos*.

➤ PROCEDIMIENTO Y CONDICIONES DE OPERACIÓN

Manteniendo la misma temperatura a la que ha tenido lugar la reacción, se añade agua destilada para favorecer la separación de metanol y ácido sulfúrico. En el procedimiento descrito para el lavado de los ésteres metílicos (sección 3.1.1.2) se empleaban embudos de adición y una agitación de 200 rpm, para minimizar la formación de emulsiones. En este caso, no se ha empleado ningún catalizador básico, por lo que el lavado se realiza con mayor volumen de agua y a una mayor agitación. Concretamente se van añadiendo volúmenes de 500 ml de agua, y se acciona la agitación a 600 rpm durante 1 minuto. Se deja entonces decantar, dándose la separación de las dos fases: una acuosa que ha arrastrado el metanol y ácido sulfúrico y una oleosa, que contiene los triglicéridos, ácidos grasos libres no reaccionados y ésteres metílicos formados por esterificación. Este proceso se repite varias veces hasta que el agua de lavado decantada presente un valor de pH próximo a neutro, indicación de que se ha eliminado todo el ácido sulfúrico remanente.

DESTILACIÓN DEL ACEITE ESTERIFICADO

➤ DESCRIPCIÓN DE LA INSTALACIÓN

La instalación empleada para la destilación del aceite esterificado ha sido descrita en el apartado 3.1.1.3. *Destilación*.

➤ PROCEDIMIENTO Y CONDICIONES DE OPERACIÓN

Antes de llevar a cabo la transesterificación, es importante eliminar el agua presente en el aceite de salmón esterificado. Esta agua podría reaccionar con el catalizador básico de la transesterificación. El secado se realiza mediante un proceso idéntico al descrito en la sección 3.1.1.3. En este caso fue necesario un tiempo de destilación cercano a 60 minutos para rebajar la humedad hasta un valor menor de 0.05%.

3.3.2.2. Transesterificación del aceite de salmón esterificado

El aceite de salmón esterificado, lavado y destilado se sometió a las mismas etapas de transesterificación, lavado y destilación que los aceites vegetales (sección *3.1.1. Obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales*). Las condiciones de operación y el procedimiento experimental fueron idénticos, por lo que no se volverá a describir en esta sección.

3.4. Referencias

- Berchmans H.J., Hirata S. (2008). "Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids" *Biores Technol* 99: 1716-1721.
- Coteron A., Vicente G., Martínez M., Aracil J. (1997). "Biodiesel production from vegetable oils. Influence of catalysts and operating conditions" *Rec Res D Oil Chem* 1: 109-114.
- El-Mashad H.M., Zhang R., Avena-Bustillos R.J. (2008). "A two-step process for biodiesel production from salmon oil" *Biosystems Eng* 99: 220-227.
- Farag H.A., El-Maghraby A., Taha N.A. (2011). "Optimization of factors affecting sterification of mixed oil with high percentage of free fatty acid" *Fuel Process Technol* 92: 507-510.
- García-Moreno P.J., Khanum M., Guadix A., Guadix E.M. (2014). "Optimization of biodiesel production from waste fish oil" *Renew Energ* 68: 618-624.
- Hykkerud A. (2015). Master Thesis: The use of heterogeneous catalysts in the production of biodiesel, Norwegian University of Life Science.
- Marchetti J.M., Errazu A.F. (2008). «Esterification of free fatty acids using sulphuric acid as catalyst in the presence of triglycerides" *Biomass Bioenerg* 32: 892-895.
- Vicente G., Martínez M., Aracil J. (2007). "Optimisation of integrated biodiesel production. Part I. A study of the biodiesel purity and quality" *Biores Technol* 98: 1724-1733.
- Zhang Y., Dubé M. A., McLean D. D., Kates M. (2003). "Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment" *Biores Technol* 89: 1-16.

IV. MÉTODOS DE ANÁLISIS

4.1. Métodos cromatográficos	97
4.1.1. Introducción a las técnicas de identificación de acilglicéridos y ésteres metílicos	97
4.1.2. Determinación de las concentraciones de ésteres metílicos, mono-, di- y triglicéridos por cromatografía en fase gaseosa (GC).....	98
4.2. Métodos no cromatográficos	102
4.2.1. Determinación del contenido en agua	103
4.2.2. Determinación del Índice de Yodo	105
4.2.3. Determinación del Índice de Peróxidos	107
4.2.4. Determinación de la acidez	109
4.2.4.1. Determinación de la acidez mediante potenciometría.....	109
4.2.4.2. Determinación de la acidez mediante valorimetría manual	110
4.2.5. Determinación de la viscosidad cinemática	112
4.2.6. Determinación de la densidad	114
4.2.7. Medida del punto de inflamación.....	116
4.2.8. Medida del número de cetano	118
4.2.8.1. Introducción a las técnicas de medida del número de cetano.....	118
4.2.8.2. Medida del número de cetano con un analizador portátil.....	119
4.2.9. Medida de las propiedades en frío	120
4.2.9.1. Introducción a las técnicas de medida de las propiedades en frío.....	120
4.2.9.2. Medida del punto de obstrucción de filtros en frío.....	122
4.2.9.3. Medida del punto de enturbamiento	123
4.2.9.4. Medida del punto de fluidez	124
4.2.10. Medida de la estabilidad a la oxidación	125
4.2.10.1. Introducción a las técnicas de medida de la estabilidad a la oxidación....	125

4. Métodos de análisis

4.2.10.2. Medida de la estabilidad a la oxidación mediante la norma europea UNE EN 14112.....	129
4.3. Referencias	133

En este capítulo se detallan los diferentes métodos de análisis empleados. Por un lado, se realiza un análisis del biodiesel obtenido, con el fin de certificar una elevada conversión y un buen proceso de lavado. La técnica empleada es la cromatografía en fase gaseosa. Para el estudio de las propiedades del biodiesel y contenido en otros compuestos como peróxidos o ácidos grasos libres, se emplean técnicas no cromatográficas.

Se hace especial hincapié a las técnicas empleadas para la medición de las propiedades en frío y de la estabilidad a la oxidación del biodiesel, ya que son las propiedades más importantes evaluadas en este estudio.

4.1. Métodos cromatográficos

4.1.1. Introducción a las técnicas de identificación de acilglicéridos y ésteres metílicos

Hasta la fecha, la cromatografía de gases ha sido la técnica más empleada para el análisis de ésteres alquílicos. La primera referencia del uso de cromatografía de gases para la cuantificación de ésteres, mono-, di- y triglicéridos data de 1986 (Freedman et al., 1986). Las muestras se hacen reaccionar antes del análisis con N,O-bis(trimetilsilil)acetamida (BSTFA, por sus siglas en inglés). De esta manera, se reemplaza el grupo hidroxilo de los glicéridos por un grupo trimetilsilil. Así se reduce su polaridad y se aumenta la volatilidad y los glicéridos pueden ser retenidos por la columna, y por tanto detectados y cuantificados. La derivatización o silación se continúa empleando para la cuantificación de la glicerina total y la glicerina libre, es decir, del glicerol y los mono-, di- y triglicéridos no convertidos en la transesterificación y aparece recogido en la norma EN 14105. La columna empleada es no polar (100% dimetilpolisiloxano o con un 5% de difenilpolisiloxano) y la silación de los compuestos se hace con el N-metil-N-trimetilsililfluoracetamida (MSTFA). Se emplean dos patrones internos: 1,2,4,-butanotriol (para la cuantificación del glicerol) y tricaprina (para la cuantificación de mono-, di- y triglicéridos).

Recientemente se ha empezado a investigar el uso de líquidos iónicos como fase estacionaria en el análisis de ésteres en cromatografía gaseosa (Ragonese et al., 2009).

La técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, de high-performance liquid chromatography) no ha sido muy empleada en el análisis de biodiesel, a pesar de requerir

menos tiempo para el análisis y la preparación de muestras, ya que no es necesaria la derivatización. La primera publicación del uso de tecnología HPLC en el análisis del biodiesel empleaba como mezcla solvente una mezcla de cloroformo y etanol y una columna acoplada a otras dos columnas de exclusión o de permeabilidad en gel (GPC, del inglés Gel Permeation Chromatography). Este sistema permite la detección de ésteres y glicéridos (Trathnigg et al., 1990). Se emplean diferentes sistemas de detección en la cromatografía en fase líquida: detector ultravioleta (UV), espectrómetro de masa (MS), detector del índice de refracción (IR) y fluorescencia. A su vez, puede tratarse de cromatografía en fase normal o en fase reversa. La primera, consiste en emplear una fase estacionaria altamente polar y una fase móvil apolar. Recibe el nombre de “fase normal” porque era la que se empleaba inicialmente. La cromatografía en fase reversa emplea una fase estacionaria no polar y una fase móvil polar. Surge en 1950 y desde entonces es un método ampliamente utilizado en HPCL.

4.1.2. Determinación de las concentraciones de ésteres metílicos, mono-, di- y triglicéridos por cromatografía en fase gaseosa (GC)

Equipo

El análisis de las especies presentes en la reacción se llevó a cabo mediante la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización de llama, GC-FID.

El equipo es un cromatógrafo de gases modelo Hewlett-Packard 5890 Series II, equipado con un detector de ionización de llama. El efluente de la columna (analito y gas portador) se mezcla con hidrógeno y aire y se quema mediante una chispa eléctrica. De esta manera, se rompen las moléculas orgánicas dando lugar a iones que son colectados en un electrodo, produciendo una señal eléctrica.

La columna se elige en base a la polaridad del analito. La fase líquida estacionaria se compone por un polímero que se liga a la superficie interna de la columna capilar. En este caso, la columna empleada es OV-5; compuesta en un 95 % por dimetilpolisiloxano y en un 5% por fenil metilpolisiloxano (la estructura de estos compuestos aparece representada en la figura 4.1). El 5% de los átomos de Silicio se enlazan con un anillo fenilo, de manera que aumenta la polaridad de la fase estacionaria respecto a las columnas que están compuestas en su totalidad por dimetilpolisiloxano.

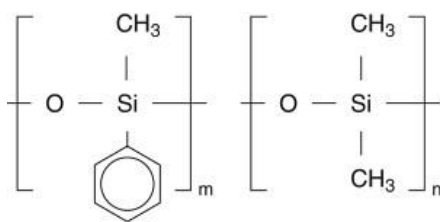


Figura 4.1. Estructura del dimetilpolisiloxano y fenil metilpolisiloxano.

En la tabla 4.1 se muestran las condiciones de operación empleadas. El sistema de inyección de la muestra es split/splitless que divide la muestra antes de la entrada a la columna. Una parte de la muestra entra a la columna y el resto es expulsado a la atmósfera a través de una válvula (split vent). Con este sistema se evita la saturación de la columna, consiguiendo picos del cromatograma más estilizados. El cromatógrafo está conectado a un integrador modelo Hewlett Packard 3396SA.

INYECCIÓN DE MUESTRA	Temperatura Inyector	325°C
	Sistema de inyección	Splitless
	Cantidad de muestra	1 µl
GAS PORTADOR	Compuesto	Helio
	Caudal	1 ml/min
	Presión	5 p.s.i.
DETECCIÓN DE MUESTRA	Sistema de detección	FID
	Temperatura Detector	275°C
	Caudal Aire	300 ml/min
	Presión Aire	34 p.s.i.
	Caudal Hidrógeno	30 ml/min
	Presión Hidrógeno	18 p.s.i.

Tabla 4.1 Condiciones de operación de la columna.

El programa de temperaturas de la columna ha sido seleccionado de manera que no se acoplen los picos de los distintos componentes y el análisis no conlleve un tiempo demasiado largo. Este programa se muestra en la tabla 4.2. En el caso de realizar el análisis de biodiesel de coco y babaçu, la temperatura inicial fue de 60°C, manteniendo el resto de condiciones. Al ser de menor peso molecular, fue preciso disminuir la temperatura para que todos los compuestos fueran detectados.

RAMPA DE TEMPERATURA DE LA COLUMNA	
Temperatura Inicial	120°C
Tiempo inicial	1 min
Velocidad de calentamiento 1	4°C/min
Temperatura final 1	160°C
Tiempo final 1	1 min
Velocidad de calentamiento 2	30°C/min
Temperatura final 2	320°C
Tiempo final 2	20 min

Tabla 4.2 Rampa de temperatura de operación de la columna.

Reactivos

- ✓ Disulfuro de Carbono (CS₂)
- ✓ Octanoato de N-Octilo: empleado como patrón para identificación de los compuestos de referencia.
- ✓ Compuestos puros de referencia: monooleína, dioleína y trioleína.

Preparación de la muestra

Se pesan en balanza de precisión entre 0.008 y 0.012 g de patrón Octanoato de N-Octilo. En el mismo vial, se pesa una cantidad de muestra entre 0.04 y 0.055 g. Se añade con pipeta 1.8 g de disulfuro de carbono y se agita el vial con ayuda de un mezclador de vórtice.

Con una jeringuilla de vidrio de capacidad 1-5 µl, se introduce 1 ml del contenido del vial de muestra en el equipo cromatográfico. El análisis se para a los 40 minutos, tiempo suficiente para que todos los compuestos abandonen la columna y sean identificados.

En la figura 4.2 se muestran los cromatogramas de compuestos de referencia. Como puede verse, los tri-, di- y monoglicéridos tienen tiempos de retención fácilmente diferenciables, siendo útil en la cuantificación de la extensión de la reacción. Los valores del tiempo de retención aparecen la tabla 4.3.

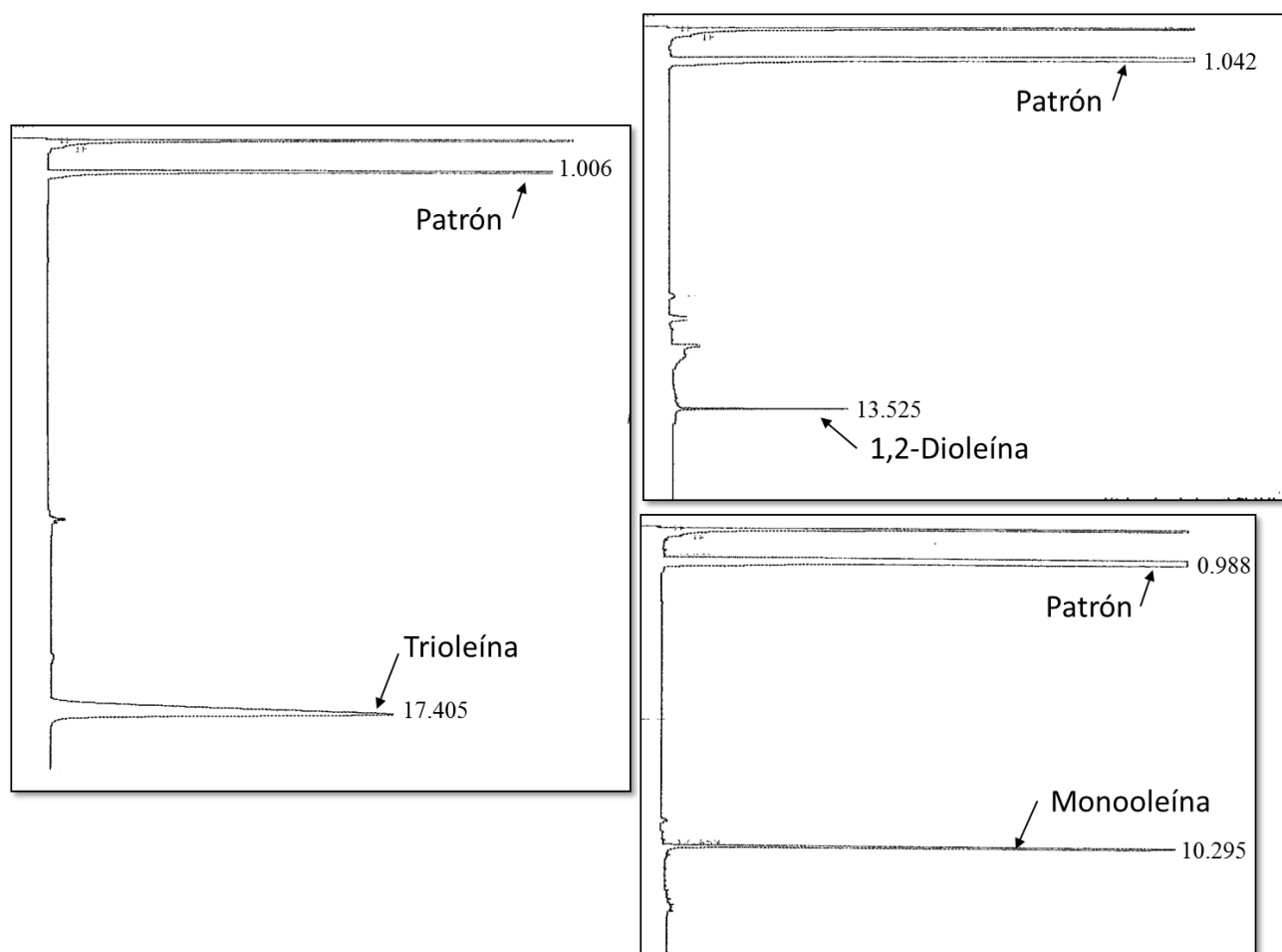


Figura 4.2. Cromatograma de compuestos de referencia: trioleína, dioleína y monooleína.

TIEMPO RETENCIÓN (min)	COMPUESTO	FÓRMULA	PESO MOLECULAR
-	Disolvente	CS ₂	76.14
0.70 -1.05	Patrón: Octanoato de n-octilo	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42
9.8-10.5	Monooleína	C ₂₁ H ₄₀ O ₄	356.54
12.9-13.8	Dioleína	C ₃₉ H ₇₂ O ₅	620.99
15.2-17.5	Trioleína	C ₅₇ H ₁₀₄ O ₆	885.432

Tabla 4.3 Tiempos de retención de acilglicéridos.

En la figura 4.3 se muestran las rectas de calibrado obtenidas para cada uno de los compuestos de referencia. Se obtuvieron relacionando el peso de muestra y de patrón con el área correspondiente del cromatograma.

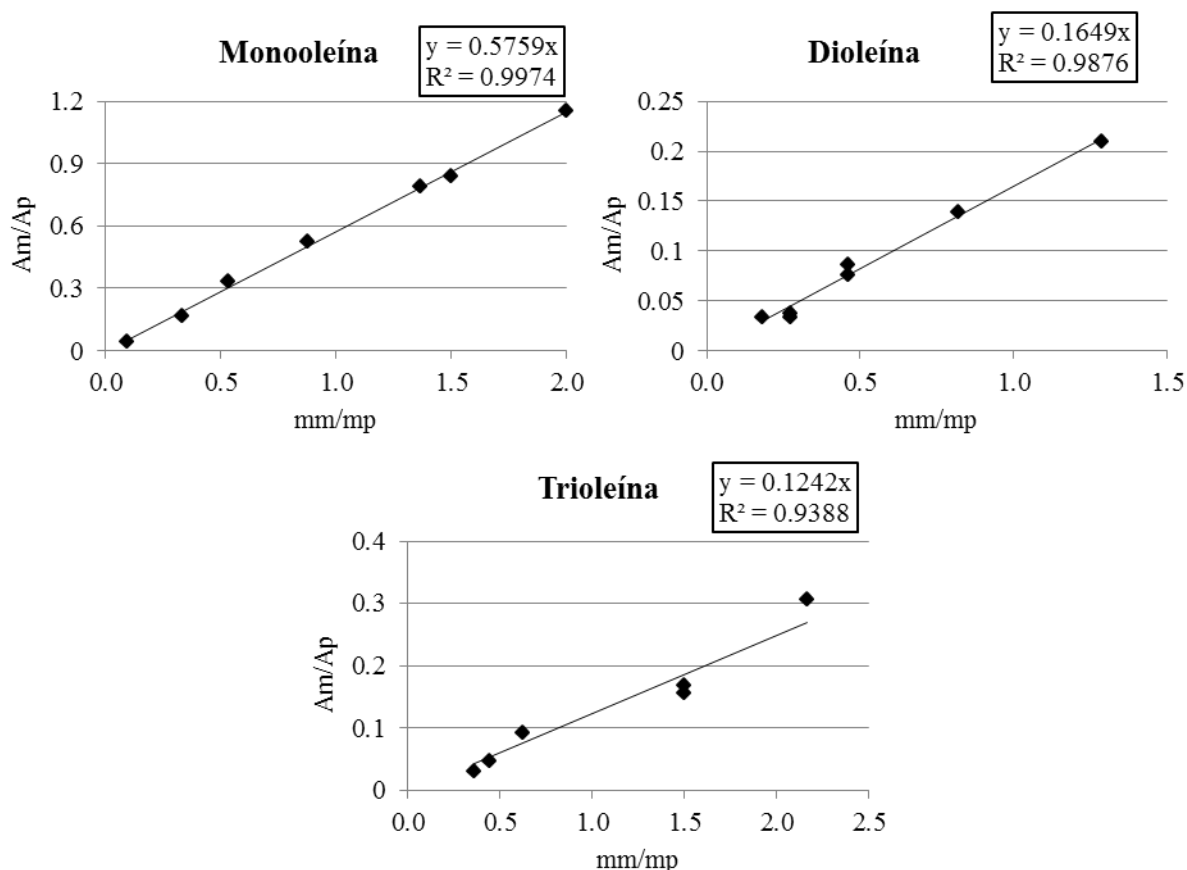


Figura 4.3. Calibrado para los compuestos de referencia: monooleína, dioleína y trioleína.

Cuando se analiza una muestra con ésteres metílicos de ácidos grasos con igual número de carbonos pero diferente número de insaturaciones, los picos correspondientes se solapan y aparecen en un mismo pico cromatográfico. Esto sucede con los ésteres metílicos del oleico, linoleico y linolénico. Por este motivo, el análisis cuantitativo de los aceites empleados en este estudio ha sido realizado por un laboratorio externo, de manera que se conocen las cantidades exactas de compuestos con el mismo número de átomos de carbono y diferentes insaturaciones. El ensayo descrito y empleado en este trabajo se emplea por lo tanto para conocer la conversión alcanzada en la transesterificación mediante la identificación de mono-, di- y triglicéridos no convertidos.

4.2. Métodos no cromatográficos

Para la determinación de las propiedades tanto de aceites como de ésteres metílicos se siguen los métodos de ensayo descritos en la norma europea UNE-EN 14214: *Productos*

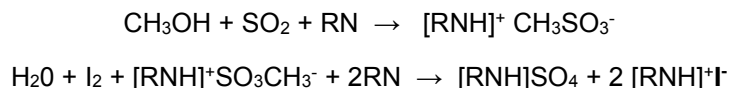
petrolíferos líquidos. Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) para motores diesel y equipos de calefacción. Requisitos y métodos de ensayo.

4.2.1. Determinación del contenido en agua

Fundamento

El contenido en agua de las muestras tanto de aceite como de biodiesel se realiza siguiendo el procedimiento de la norma europea EN 12937. Se basa en una titulación con el reactivo denominado Karl Fisher, que reacciona cuantitativamente con el agua presente en la muestra. El punto final de la titulación se determina por potenciometría.

La disolución anódica contiene alcohol, una base, y dióxido de azufre mientras que la disolución catódica está compuesta por cloroformo y alcohol (metanol), en partes iguales. El cloroformo está indicado para favorecer la disolución de sustancias de naturaleza grasa, pero no se aconseja emplearlo puro, por lo que el contenido en metanol es normalmente del 50%. La base permite la neutralización y estabilización del producto intermedio de la reacción (CH_3SO_3^-). Se emplea el Imidazol (representado en la ecuación como RN), con gran afinidad por el anión metilsulfónico y capaz de estabilizar el pH en el rango óptimo 5-7.



La primera reacción produce el producto intermedio anión metilsulfónico. La segunda reacción es de óxido-reducción: el anión del ácido metilsulfónico es oxidado a metilsulfato, y el yodo es reducido a yoduro.

El circuito detector mantiene una corriente (5-10 mA) entre los electrodos y mide cuantitativamente el voltaje necesario para mantener dicha corriente. En una disolución que contiene yodo (I_2) y yoduro (I^-), el potencial requerido para mantener una corriente constante es bajo. Cuando hay un exceso de I_2 (ya no hay agua por titular en la disolución) el potencial requerido para mantener esa corriente constante es alto, señalándose así el final de la valoración.

Norma

El método de ensayo empleado es EN ISO 12937: Productos petrolíferos. Determinación de agua. Método de Karl-Fischer por valoración coulombimétrica.

Norma: AOCS Ca 2e-84

Equipo

Esta determinación se realiza con un equipo automático de valoraciones Modelo 702 SM Tritino. La figura 4.4 corresponde a una fotografía del valorador automático y los reactivos empleados.

Reactivos

- ✓ Metanol seco (CH_2O), pureza 99.9%.
- ✓ Cloroformo seco (CHCl_3), pureza 99.9%.
- ✓ Hydranal Composite 2 (Reactivo Karl Fisher)

Preparación de la muestra

Se pesa una cantidad determinada de muestra, en función del valor esperado de humedad. En este caso, el valor oscila entre 0.05 y 1%, y la cantidad empleada de muestra oscila entre 4 y 5 gramos. En el vaso de valoración se añade una mezcla de disolventes metanol-cloroformo 1:1 (solución catódica), en cantidad suficiente para cubrir el electrodo del equipo. Cuando el equipo está estabilizado, se añade la muestra al vaso de valoración y comienza el análisis.

Expresión de los resultados

A partir del peso empleado de muestra, la salida del equipo automático de valoración está expresada en porcentaje másico.

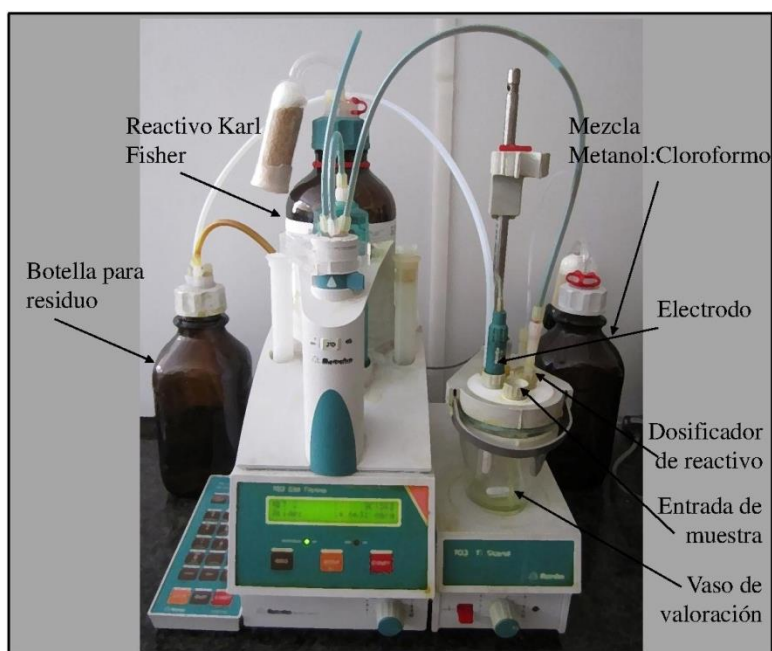
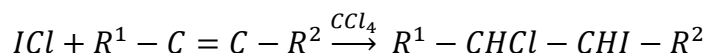


Figura 4.4. Equipo automático empleado para la determinación del contenido en agua.

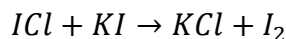
4.2.2. Determinación del Índice de Yodo

Fundamento

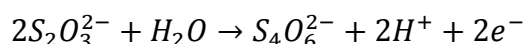
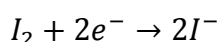
El índice de yodo es una medida del grado de insaturación de una mezcla y se expresa en mg de I_2 absorbidos por 100 gramos de muestra. El I_2 no reacciona directamente con las insaturaciones de una sustancia, por lo que se emplea un compuesto halogenado, en este caso el cloruro de yodo, recibiendo el nombre de método de Wijs.



Para poder valorar el ICl no reaccionado, se añade a la disolución yoduro potásico, KI, formándose I_2 mediante la reacción:



Este I_2 formado es el que se valora con una disolución de tiosulfato sódico mediante una potenciometría:



El reactivo halogenante es de concentración aproximada y variable, por lo que es necesario realizar un ensayo en blanco calculando así su equivalencia de yodo.

Norma

Se aplica el método de ensayo pr EN 14111: Derivados de aceites y grasas. Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME). Determinación del índice de yodo.

Equipo

Su análisis se realiza con el equipo automático empleado también en la determinación de la humedad (Modelo 702 SM Tritino). Sólo es preciso preparar los reactivos y acondicionar la muestra.

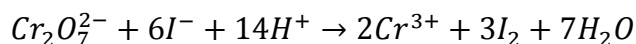
Reactivos

✓ Disolución de yoduro potásico (KI), 100 g/l (disolución al 10%). Se prepara disolviendo 100 g de reactivo (KI) en 1000 ml de agua desionizada.

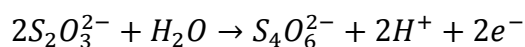
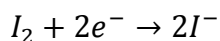
✓ Disolución indicadora. Disolución de almidón soluble $(C_6H_{10}O_5)_n$, preparado recientemente. Se hace una pasta con 1 g de almidón soluble y una pequeña cantidad de agua destilada fría. Se añade, mientras se agita, a 100 ml de agua hirviendo.

4. Métodos de análisis

- ✓ Reactivo de Wijs 0,1 mol/l
- ✓ Tetracloruro de carbono (CCl₄)
- ✓ Solución de tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃) 0,1 N: se pesan 2,8 gramos de Na₂S₂O₃ y se disuelve en 125 ml de agua destilada. Una vez disuelto se enrasa un matraz aforado de 1 litro. Se agita con cuidado y se tapa con un tapón de plástico. Debe ser previamente normalizado, para conocer su concentración exacta. Se realiza con dicromato potásico como patrón primario.
- ✓ Solución patrón de dicromato potásico: se introduce en una estufa para desecarlo durante 2 horas a 120°C. Se disuelve una cantidad comprendida entre 0.16 y 0.22 gramos en 25 ml de agua destilada. Se añaden entonces 5 ml de ácido clorhídrico al 35% y 20 ml de KI al 10%. Se añaden 100 ml de agua destilada. Se produce la oxidación del dicromato, liberándose I₂.



Se procede a valorar con la disolución de tiosulfato sódico en el equipo automático:



Acondicionamiento de la muestra

Para ello, la muestra se disuelve en tetracloruro de carbono y se le adiciona reactivo de Wijs. Se deja reaccionar en condiciones de oscuridad durante 2 horas. De esta manera se minimizan las posibles reacciones laterales radicalarias inducidas por la luz, que darían lugar a un consumo de halógeno mayor. Pasadas las dos horas, se paraliza la reacción adicionando KI y se procede a la valoración en el equipo automático.

Expresión de los resultados

El equipo está programado para expresar el resultado final en mg de Yodo por 100 gramos de muestra. Para ello, se aplica la fórmula:

$$IV\left(\frac{mgI_2}{100g\text{ muestra}}\right) = \frac{N(V_B - V_M) * 127}{M_M} * 0.1$$

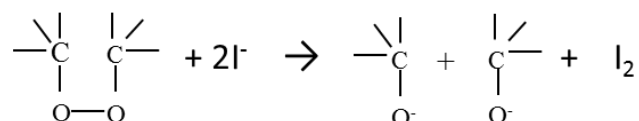
Siendo N, la normalidad del tiosulfato sódico empleado, V_B y V_M el volumen de tiosulfato consumidos en la valoración del blanco y de la muestra, respectivamente, M_M la masa de muestra empleada en gramos y 127 es el resultado de dividir el peso molecular del I_2 entre 2.

4.2.3. Determinación del Índice de Peróxidos

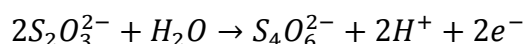
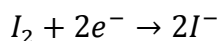
Fundamento

Mediante esta determinación se cuantifican las especies capaces de oxidar yoduro potásico bajo unas determinadas condiciones de reacción. El contenido en peróxidos de una grasa es indicativo de la degradación sufrida, puesto que se son sustancias que provienen de procesos oxidativos.

Se produce la reducción de los peróxidos con yoduro, con la posterior valoración del yodo formado. Según el tipo de enlace del oxígeno peroxídico en la molécula, se pueden dar diferentes reacciones. A continuación se muestra un ejemplo:



Este I_2 formado es el que se valora con una disolución de tiosulfato sódico mediante una potenciometría:



Equipo

Su análisis se realiza con el equipo automático empleado Modelo 702 SM Tritino (figura 4.5).

Reactivos

Los reactivos son los empleados en la determinación del Índice de Yodo, excepto en el caso de la disolución de tiosulfato sódico ($Na_2S_2O_3$).

✓ Solución de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) 0,01 N: tras la preparación y normalización con patrón primario de la disolución de tiosulfato sódico 0.1 N (empleada para la determinación del índice de yodo), se introducen en un matraz aforado 100 ml con una pipeta de precisión y se enrasa hasta 1 litro con agua destilada, previamente hervida.

Preparación de la muestra

Se pesan aproximadamente 5 gramos de muestra y se disuelven en una mezcla de disolventes ácido acético glacial y cloroformo (3:2).

Se añaden 0.5 ml de la solución de KI. Se agita suavemente y se deja reaccionar en la oscuridad durante 1 minuto. Transcurrido este tiempo, se añaden 20 ml de agua destilada y se procede a la valoración con tiosulfato sódico normalizado en el equipo automático.

Al igual que en el caso de la determinación del índice de yodo, es necesario realizar un ensayo en blanco.

Expresión de los resultados

El equipo proporciona directamente el resultado en unidades de miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de muestra, aplicando la ecuación:

$$IV\left(\frac{\text{meq } O_2}{\text{kg muestra}}\right) = \frac{N(V_M - V_B)}{M_M} * 1000$$

Siendo N, la normalidad del tiosulfato sódico empleado, V_B y V_M el volumen de tiosulfato consumidos en la valoración del blanco y de la muestra, respectivamente, y M_M la masa de muestra empleada expresada en gramos.

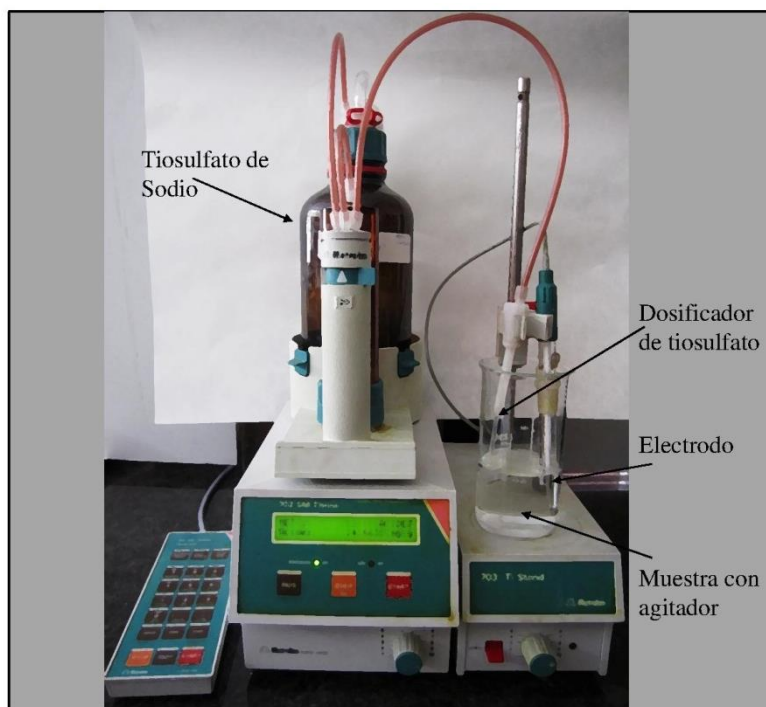


Figura 4.5. Equipo automático empleado para la determinación del Índice de Yodo.

4.2.4. Determinación de la acidez

Fundamento

El índice de acidez se define como la cantidad de hidróxido potásico (mg) necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres contenidos en 1 gramo de muestra. A continuación se detallan los dos métodos empleados en el transcurso de esta investigación: el método automático se utilizó en los análisis realizados en el Departamento de Ingeniería Química de la UCM, mientras que la determinación de la acidez mediante valorimetría manual se empleó en el Departamento de Ciencias Matemáticas y Tecnología de la NMBU, para la optimización y obtención de parámetros cinéticos de la esterificación de los ácidos grasos del aceite de salmón.

4.2.4.1. Determinación de la acidez mediante potenciometría

Este método se basa en la medida del potencial eléctrico de un electrodo sumergido en una disolución. El pH-metro consta de un electrodo combinado, que reúne en una pieza al electrodo de referencia y al electrodo sensible a la concentración de protones. La diferencia de potencial entre los dos electrodos es proporcional a la concentración de protones.

Norma

pr EN 14104: Productos derivados de aceites y grasas. Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME). Determinación del índice de acidez.

Equipo

Para esta medida se emplea el equipo automático Titrino, con adición automática de la disolución valoradora (figura 4.6).

Reactivos

✓ Disolución valoradora NaOH 0.1 N: se disuelven 4 gramos de NaOH en agua destilada y se enrasa en un matraz aforado de 1 litro.

✓ Disolución patrón primario de ácido benzoico: el ácido benzoico se mantiene en estufa a 120°C durante dos horas y luego se enfría en un desecador. Se pesan 1.20 gramos que se disuelven en 50 ml de etanol

✓ Disolución indicadora de fenolftaleína: se disuelve 1 g de fenolftaleína en etanol y se diluye a 100 ml.

✓ Etanol neutralizado: se añaden al etanol unas gotas de fenolftaleína y unos mililitros de disolución hidróxido sódico hasta que se observe una leve tonalidad rosada. El propósito de la neutralización del etanol es evitar contabilizar su acidez propia como acidez de la muestra.



Figura 4.6. Equipo automático empleado para la determinación de la acidez.

Preparación de la muestra

La disolución de hidróxido sódico no es patrón primario, por lo que es necesario emplear un patrón primario como es el ácido benzoico para conocer la normalidad exacta de la disolución valoradora. Esta disolución se valora con la disolución de hidróxido sódico en el equipo automático.

La muestra a analizar se disuelve en 50 ml de etanol neutralizado. La muestra disuelta se valora con el equipo automático. A partir del peso de muestra y de las diferencias de potencial en el transcurso de la valoración el equipo calcula la acidez de la muestra.

4.2.4.2. Determinación de la acidez mediante valorimetría manual

En este método la cantidad necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres de la muestra se calcula de manera visual a partir del viraje de color de un indicador ácido-base.

Material

- ✓ Balanza de precisión
- ✓ Matraz aforado de 1 litro.
- ✓ Erlenmeyer de 50 ml.
- ✓ Bureta graduada de 25 ml.

Reactivos

- ✓ Disolución valoradora KOH 0.02 N.
- ✓ Disolución patrón primario de ácido benzoico.
- ✓ Disolución indicadora de fenolftaleína: se disuelve 1 g de fenolftaleína en etanol y se diluye a 100 ml.
- ✓ Mezcla disolución de muestra: etanol y dietiléter en partes iguales, al 50% en volumen.

Preparación de la muestra y análisis

La muestra se disuelve en un matraz con 10 ml de una mezcla al 50% en volumen de etanol y dietiléter. Se añaden 2 ml de solución indicadora y se procede a la valoración con la disolución de hidróxido potásico, con una bureta graduada. El viraje del indicador señala el punto final de la valoración; la disolución inicialmente transparente o con un ligero color amarillento debido al color de la muestra, se torna rosa.

Para no contabilizar el posible valorante consumido por el disolvente, se realiza una valoración en blanco.

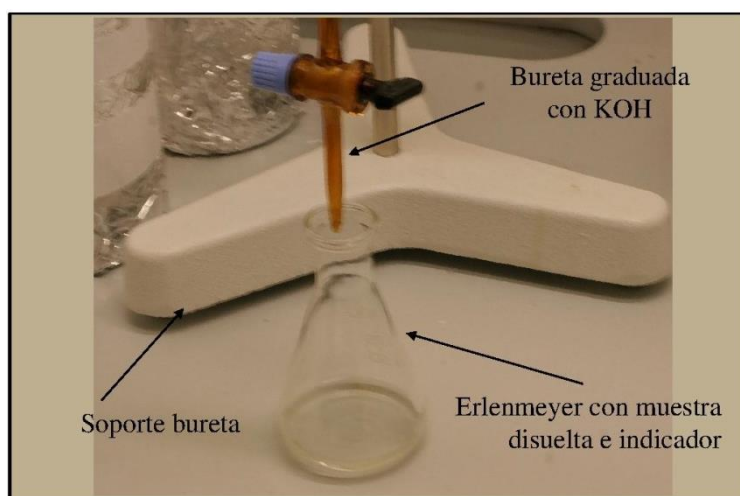


Figura 4.7. Instrumental empleado para la determinación manual de la acidez.

Expresión de los resultados

El volumen consumido hasta el viraje del indicador se emplea para calcular la acidez de la muestra según la fórmula:

$$\text{Acidez (mgKOH/g)} = \frac{(V_m - V_b) * N * Pm(KOH) * 1000}{M_m}$$

Donde V_m y V_b es el volumen (ml) de disolución KOH consumida en la valoración de la muestra y del blanco, respectivamente, N es la normalidad de la disolución de KOH (eq/l), Pm es la masa molecular del hidróxido potásico (g/mol) y M_m es la masa de muestra (mg).

A partir de los valores de acidez obtenidos, se puede calcular el porcentaje de ácidos grasos en la muestra, expresados como ácido oleico. Para ello se divide el valor de acidez entre 2.

4.2.5. Determinación de la viscosidad cinemática

Fundamento

La viscosidad es una medida de la resistencia de un líquido a fluir debido a fricciones internas entre capas adyacentes. Si la viscosidad del combustible es excesiva, se produce una inyección deficiente en la cámara de combustión de manera que puede producirse una combustión incompleta, deterioro de las agujas del inyector y deposición de partículas.

Norma

El método de ensayo está basado en la norma ASTM D 445 y EN ISO 3104.

Equipo

La viscosidad cinemática de las muestras se mide con un viscosímetro calibrado Cannon-Fenske. La instalación, mostrada en la figura 4.8, consta de un baño de agua TAMSON TV 2000, para mantener la temperatura constante. El viscosímetro calibrado aparece en la figura 4.9.



Figura 4.8. Instalación empleada para la determinación de la viscosidad: baño.



Figura 4.9. Viscosímetro.

Preparación de la muestra

No se exige ninguna preparación previa de la muestra, si bien ésta debe encontrarse bien mezclada y completamente líquida antes de realizar el análisis.

Análisis

El viscosímetro con la muestra en el reservorio es introducido en el baño, que está a 40°C. El tubo de ventilación debe encontrarse totalmente vertical, y la bola de entrada debe estar completamente sumergida en el baño. Tras 30 minutos, se considera que ha pasado el tiempo suficiente para que la muestra haya alcanzado dicha temperatura. Se realiza la succión del líquido por el tubo capilar del viscosímetro. Se mide entonces lo que tarda en fluir desde la marca de enrase superior hasta la marca de enrase inferior.

Expresión de los resultados

Para calcular el valor de viscosidad a partir de la medición de tiempo obtenida, se aplica la constante propia del viscosímetro calibrado.

Puesto que la viscosidad del aceite es un orden de magnitud mayor que en el caso de los ésteres metílicos, se emplean viscosímetros diferentes para que el tiempo requerido no sea demasiado largo.

Viscosímetro empleado para aceites: $v \text{ (mm}^2/\text{s)} = 0.35885 * t(\text{s})$

Viscosímetro empleado para ésteres metílicos: $v \text{ (mm}^2/\text{s)} = 0.0086848 * t(\text{s})$

4.2.6. Determinación de la densidad

Fundamento

La densidad de una sustancia se refiere a la masa contenida en un determinado volumen. Es una propiedad de fácil medición y se puede correlacionar con otras propiedades como el poder calorífico.

La densidad se determina a partir del método del tubo en forma de “U” oscilante. Este método se basa en la frecuencia de oscilación de una muestra. La muestra se introduce en un tubo en forma de “U” que es excitado electrónicamente, de manera que oscila su frecuencia característica, la cual varía en función de la densidad de la muestra.

Norma

El método de ensayo está basado en la norma EN ISO 12185:1996, ASTM D 4052.

Equipo

Se emplea un densímetro automático modelo DM40 (figura 4.10). La celda de medición del densímetro dispone de un termostato integrado. Se programa para realizar la medición de la densidad a una temperatura determinada, en este caso y obedeciendo a la norma aplicable, se establece una temperatura de 15°C.

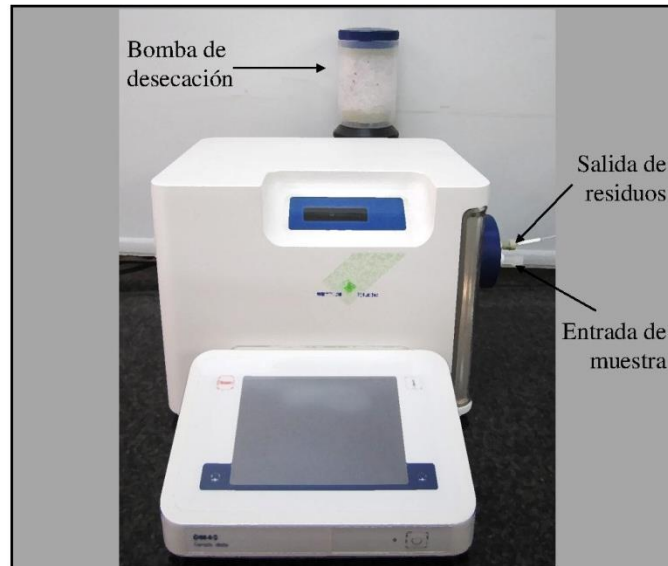


Figura 4.10. Densímetro automático.

Preparación de la muestra

En principio no requiere preparación de la muestra a analizar. Es preciso que la muestra sometida al ensayo sea representativa, para lo que en ocasiones es necesario agitar la muestra para garantizar la homogeneización de la misma. Si la muestra contiene sólidos en suspensión, deben ser eliminados por filtración.

Análisis

La densidad de la muestra se determina con un densímetro automático que debe ser previamente calibrado al menos con dos fluidos diferentes. En este caso se emplea agua y aire:

- Agua: antes de su uso se elimina el aire disuelto haciéndola hervir. Antes del calibrado, se hace pasar por un filtro reduciendo así al mínimo la cantidad de aire que pueda contener.
- Aire: el equipo realiza el calibrado con aire del ambiente.

Se realiza un test de limpieza para asegurar que la celda de medición no contiene restos de anteriores análisis o cualquier otra sustancia que pueda interferir en la medición. La cantidad de muestra introducida en el equipo es de aproximadamente 5 ml.

Expresión de los resultados

El equipo está programado para devolver los resultados en unidades de g/cm^3 .

4.2.7. Medida del punto de inflamación

Fundamento

El punto de inflamación o flash point en inglés se define como la temperatura mínima a la cual un líquido inflamable desprende suficiente vapor como para formar una mezcla inflamable con el aire que rodea la superficie del líquido. La medición puede realizarse mediante el método de vaso abierto o cerrado. La temperatura de inflamación medida en vaso cerrado es menor que en vaso abierto, puesto que en el primer caso se evita la pérdida de los volátiles generados.

Norma

El método de ensayo se basa en el estandarizado según la UNE-EN ISO 2719: Determinación del punto de inflamación, método de Pensky Martens en vaso cerrado.

Equipo

Se emplea un equipo marca PETROTEST, modelo PMA4. Este equipo se muestra en la figura 4.11 y consta de los siguientes elementos:

- a) Vaso de latón para la colocación de la muestra.
- b) Dispositivo de calentamiento y enfriamiento.
- c) Cabezal de medida con resistencia para la fuente de ignición, termopar para el control de la temperatura y agitador (figura 4.12).
- d) Interfaz para el análisis y manejo de los resultados.

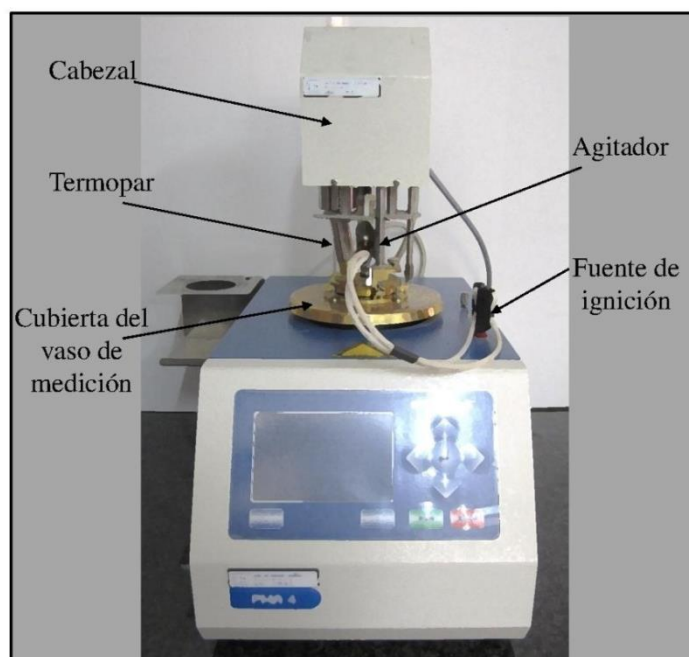


Figura 4.11. Equipo de medición del punto de inflamación.



Figura 4.12. Detalle de la cubierta del vaso de muestra en la determinación del punto de inflamación.

Análisis

La muestra (50 ml) se coloca en un recipiente de latón que tiene una marca de enrase. Se coloca la cubierta y se acopla el cabezal de medición. A medida que se calienta la muestra se hace pasar sobre su superficie una pequeña llama o resistencia eléctrica. En esta superficie se confinan los vapores. Cuando la muestra alcanza su temperatura de inflamabilidad, se produce una ignición repentina que es registrada en el equipo y expresada en grados centígrados.

4.2.8. Medida del número de cetano

El número de cetano se emplea para caracterizar la facilidad de inflamación del biodiesel. Se trata de una medida del retraso de la ignición, tiempo que transcurre entre la inyección del carburante en la cámara de combustión y el comienzo de la combustión. Es un parámetro adimensional, cuyo valor se encuentra entre 15 y 100, que son los valores de dos combustibles de referencia. El isocetano ($C_{16}H_{34}$, o 2,2,4,4,6,8,8- heptametilnonano) es un compuesto altamente ramificado con poca calidad de ignición y tiene el valor asignado de 15. El hexadecano o cetano (también de fórmula $C_{16}H_{34}$) es un hidrocarburo lineal sin ramificaciones, de fácil ignición al que se le asigna el valor de 100.

4.2.8.1. Introducción a las técnicas de medida del número de cetano

Medida del número de cetano mediante la prueba de motor (ASTM D613, EN ISO 5165)

Se emplea un motor diésel de referencia (CFR, por sus siglas en inglés de Cooperative Fuel Research). Este motor tiene unas características estandarizadas y en él se obtiene el valor de detonación del combustible a analizar. Se mezclan entonces diferentes proporciones de los combustibles de referencia hasta obtener el mismo grado de detonación (isocetano y cetano, o hexadecano). El porcentaje de la mezcla con igual grado de detonación establece el número de cetano del combustible ensayado. Este número se corresponde al porcentaje de cetano contenido en la mezcla de combustibles de referencia.

Medida del número de cetano mediante el Ensayo de la Calidad de Ignición (ASTM D6890 y EN 15195)

Se conoce como el método IQTTM, por su nombre en inglés Ignition Quality Tester. Se inyecta la muestra en una cámara de combustión de volumen constante, con temperatura controlada y que ha sido cargada con aire comprimido. Cada inyección de muestra produce una combustión. Se determina el retraso en la ignición (ID, del inglés ignition delay), mediante sensores que detectan el tiempo entre la inyección del combustible y el comienzo de la combustión. Permite realizar el análisis con mayor rapidez y consume menos combustible (Knothe, 2004). El retraso en la ignición se relaciona con el número de cetano mediante la ecuación:

$$CN_{IQT} = 83.99 \cdot (ID - 1.512)^{-0.658} + 3.547$$

Cálculo del índice de cetano

El índice de cetano es un número calculado, basado en dos propiedades del biodiesel: densidad e intervalo de destilación. El método ASTM D4737 emplea “4 puntos” ya que se basa en la densidad y en las temperaturas de destilación del 10, 50 y 90%. El método ASTM D976 utiliza sólo la densidad y la temperatura de recuperación del 50%.

4.2.8.2. Medida del número de cetano con un analizador portátil

Fundamento

El método empleado en el presente trabajo se basa en medida de las propiedades de combustibles a partir de espectrometría infrarroja con transformada de Fourier. La luz infrarroja atraviesa la muestra y se registra la cantidad de energía absorbida en cada longitud de onda. Usando una transformada de Fourier se miden todas las longitudes de onda a la vez, y se obtiene un espectro propio de cada muestra. Este espectro se compara con espectros de referencia y se calculan las propiedades de la muestra analizada en función de las propiedades de las sustancias de referencia.

Equipo

Se emplea un analizador automático portátil modelo Irox, marca Grabner (figura 4.13). Este equipo se emplea como analizador portátil de diesel y se emplea para la predicción de propiedades como el número de cetano, contenido total de aromáticos, las propiedades de destilación, presión de vapor o el contenido de ésteres metílico en diesel. Cuenta con una inmensa librería con compuestos de referencia. Para la estimación del número de cetano de los ésteres metílicos, se emplearon como referencia ésteres metílicos de aceite de soja, colza, girasol alto oleico y palma, producidos en el laboratorio. Estas muestras fueron sometidas en un laboratorio externo al ensayo estandarizado UNE EN 15195-2007: *Productos petrolíferos líquidos. Determinación del retardo de ignición y del número de cetano derivado (DCN) en destilados medios mediante combustión en una cámara de volumen constante*, que es el método descrito anteriormente y que se conoce como método IQTTM. Los números de cetano se asociaron en el equipo automático a los espectros de absorción correspondientes.



Figura 4.13. Analizador portátil empleado para la medición del índice de cetano.

Análisis

Antes de introducir la muestra, se hace pasar hexano para calcular la línea base a partir de la cual se determina el espectro de absorción. Una vez obtenida, la muestra es succionada por un capilar y se procede al análisis.

4.2.9. Medida de las propiedades en frío

4.2.9.1. Introducción a las técnicas de medida de las propiedades en frío

Determinación por Calorimetría Diferencial de Barrido

Este método se viene empleando desde hace varias décadas. Se basa en la determinación de los flujos de calor que tienen lugar en las transiciones de fase de una sustancia, como la cristalización, fusión y evaporación.

Las muestras se estabilizan en una corriente de inerte a temperatura ambiente durante cierto tiempo. Pasado el periodo de estabilización, varía la temperatura del gas portador. Cuando se produce la fusión de una muestra (aumentando la temperatura del gas portador), se requiere un flujo mayor de calor hacia la muestra, ya que se trata de un proceso endotérmico. Si se hace disminuir la temperatura, se requiere un flujo menor de calor, puesto que la cristalización es una transición de fase exotérmica. Durante el proceso se recogen datos de flujo de calor en función del tiempo y de la temperatura. De esta manera se obtienen los correspondientes puntos de transición (temperatura de inicio y finalización de la transición). En la figura 4.14

se muestran dos ejemplos de gráficas resultantes de aplicar la calorimetría diferencial de barrido a distintos ésteres metílicos: oleato (MeC18:1), esterato (MeC18) y palmitato (MeC16) de metilo. La figura 4.14.a es una curva de calentamiento donde el proceso de fusión absorbe energía puesto que se trata de un proceso endotérmico, siendo por tanto el flujo resultante negativo (por absorción de la muestra). En la figura 4.14.b se representa una curva de cristalización, obtenida por disminución de temperatura. Cuando se produce la cristalización del éster metílico se libera energía por ser un proceso exotérmico, de manera que el flujo de energía resulta positivo (Dunn, 2008).

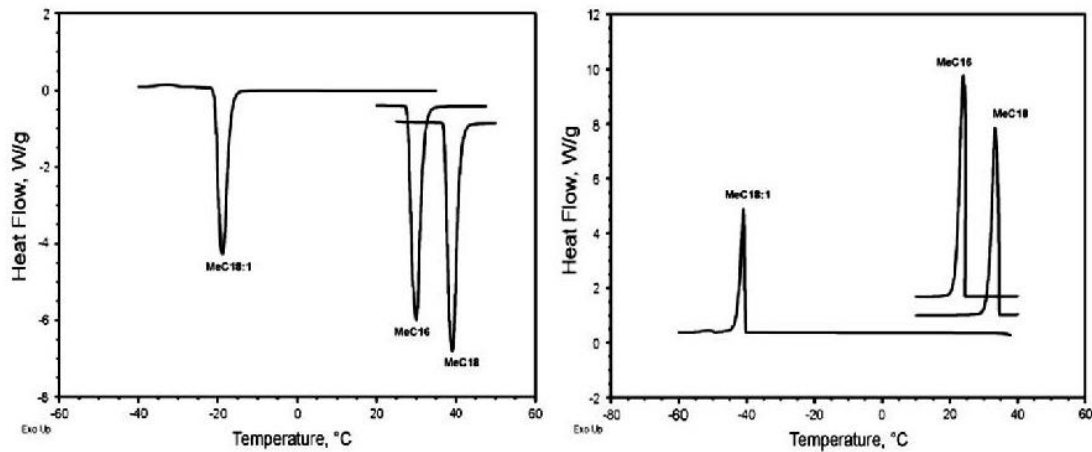


Figura 4.14. Calorimetría diferencial de barrido empleada para el análisis de las propiedades del biodiesel a bajas temperaturas. Imagen de Dunn, 2008.

Tanto en la norma europea que regula las especificaciones del diesel (EN 590) como en la que regula las especificaciones del biodiesel (EN 14214) aparece el *punto de obstrucción de filtros en frío* (CFPP, del inglés *cold filter plugging point*) como parámetro para determinar el comportamiento en frío del combustible, y es el utilizado en este estudio. Dos parámetros más aparecen íntimamente relacionados con el CFPP: son el *punto de niebla* (CP, del inglés *cloud point*) y el *punto de escurrimiento* (PP, del inglés *pour point*). Aunque ninguno de ellos aparece en los métodos de ensayo especificados en las normas europeas, sí que aparece la necesidad de indicar el valor del cloud point en la norma ASTM.

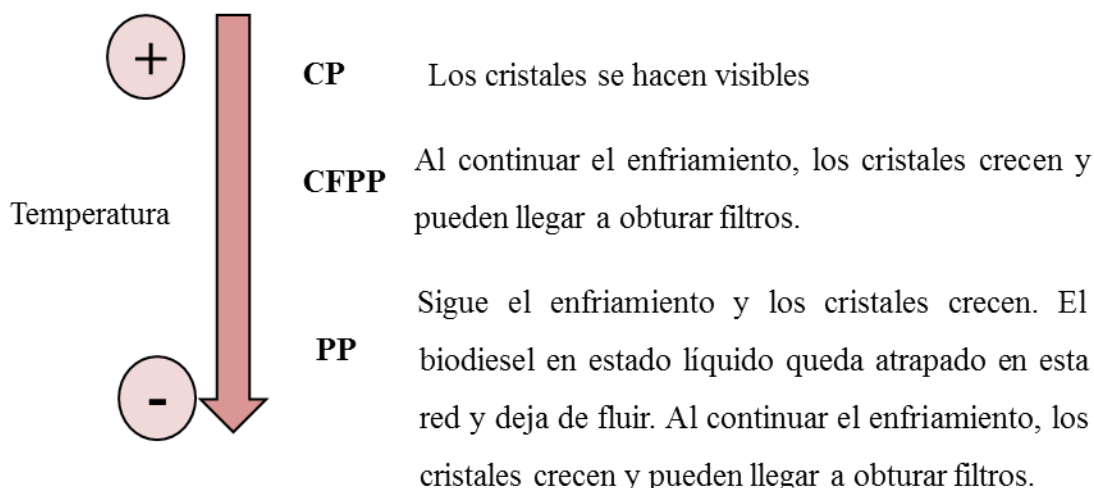


Figura 4.15. Evolución del proceso de cristalización y solidificación.

4.2.9.2. Medida del punto de obstrucción de filtros en frío

Para la medida de las propiedades en frío se emplea un equipo automático, mostrado en la figura 4.16. En él, pueden determinarse los tres parámetros analizados: punto de obstrucción de filtros en frío (CFPP), punto de niebla (CP) y punto de escurrimiento (PP).

Fundamento y análisis automático

El **punto de obstrucción de filtros en frío**, POFF (CFPP, de inglés Cold Filter Plugging Point) se define como la mínima temperatura a la cual 20 ml de muestra pasan a través de un filtro normalizado de tamiz de malla metálica de acero inoxidable de 45 μm de abertura nominal con un diámetro de 15 mm a vacío de 0.0194 atm y en un tiempo de 60 segundos.

Norma

Método de ensayo EN 116.

Equipo

Se emplea un analizador automático ISL CPP 97-2 (ISL, Francia). Este equipo consta de:

- Soporte de medición: en el soporte de medición hay dos puestos de medición con sus correspondientes chaquetas de enfriamiento. En el puesto 1 se coloca la muestra para la determinación del CFPP y del CP, mientras que en el puesto 2 se realiza la determinación del PP.

Para cada análisis hay un cabezal de medición que cuenta con diferentes elementos:

- ✓ Cabezal de medición del CFPP: lleva acoplado termómetro, filtro y pipeta.
- ✓ Cabezal de medición del CP: con termómetro, emisor de luz y sensor de luz.

✓ Cabezal de medición del PP: con termómetro.

Los cabezales de medición están conectados al bloque soporte de medición.

b) Sistema de vacío (con tanque de agua, caudalímetro y manómetro).

c) Baño refrigerante Julabo (emplea etanol como fluido refrigerante).

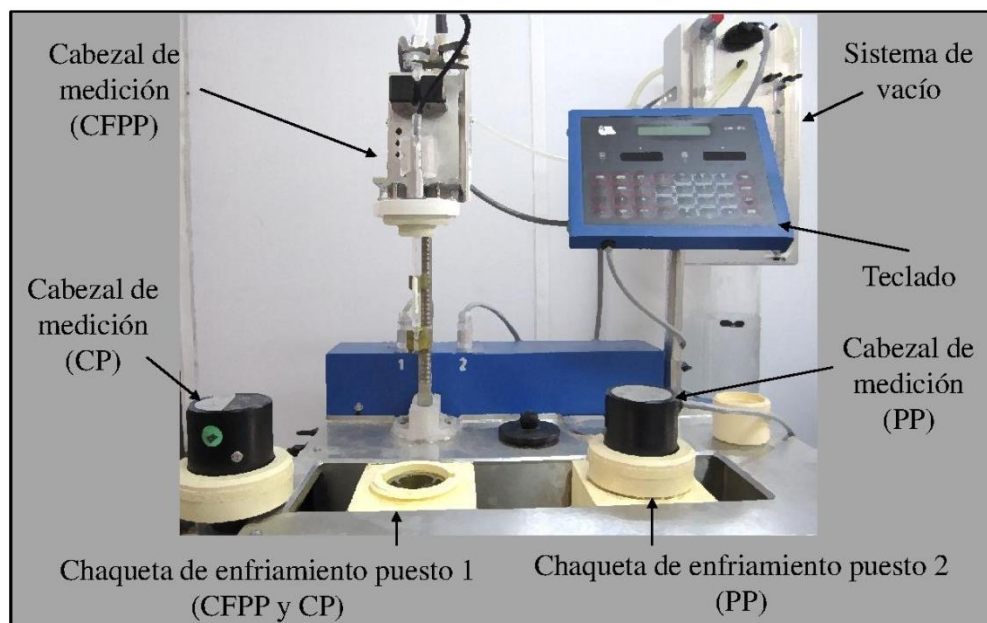


Figura 4.16. Analizador automático para la determinación de las propiedades en frío.

Preparación de la muestra y análisis

La muestra se vierte en el vaso de ensayo hasta la marca de enrase (45 ml). Se coloca en el puesto de medición 1 y se coloca el cabezal de medición del CFPP, que tiene acoplado la pipeta, termómetro y filtro.

La muestra es enfriada y aspirada por la pipeta a intervalos de 1°C. El ensayo finaliza cuando, debido a la formación de cristales, se detiene o disminuye el flujo y el tiempo necesario para llenar la pipeta supere los 60 segundos.

4.2.9.3. Medida del punto de enturbamiento

Fundamento

El **punto de enturbamiento** (CP, Cloud Point) es la temperatura a la que la cristalización de la muestra genera partículas visibles (diámetro $\geq 0.5 \mu\text{m}$).

Norma

Método de ensayo ASTM D2500: *Standard Test Method for Cloud Point of Petroleum Products*.

Equipo

Se utiliza el equipo automático ISL CPP 97-2, descrito anteriormente.

Análisis

La muestra se introduce en el vaso de ensayo hasta la marca de enrase. Este recipiente tiene fondo de espejo para poder realizar la medición. La muestra es enfriada a 1.5°C/min y examinada continuamente mediante dispersión de luz (LS, del inglés light scattering). Se coloca el cabezal de medición del CP, que cuenta con el termómetro, emisor de pulso de luz y sensor óptico. El rayo de luz emitido se refleja en el fondo de espejo del vaso de ensayo hasta el sensor óptico. La dispersión de luz es analizada por el software.

4.2.9.4. Medida del punto de fluidez

Fundamento

El **punto de fluidez** (PP, Pour Point) es la mínima temperatura a la cual la muestra es capaz de fluir. Desde la formación de los sólidos cristalinos y a medida de descende la temperatura, la aglomeración de los cristales se extiende de manera que impide que el fluido fluya libremente.

Norma

Método de ensayo ASTM D97: *Standard Test Method for Pour Point of Petroleum Products*.

Equipo

Se utiliza el equipo automático ISL CPP 97-2, descrito anteriormente.

Análisis

La muestra se introduce en el vaso de análisis hasta la marca de enrase y se coloca en el bloque correspondiente al puesto 2 en el equipo. Se coloca el cabezal de medición para el PP que contiene el termómetro y comienza el análisis. La muestra es enfriada y cada 3°C el recipiente se inclina para detectar el movimiento. Cuando la muestra deja de fluir el análisis

finaliza y el punto de fluidez reportado será el resultado de sumar 3 grados a la temperatura a la cual no se ha detectado movimiento.

4.2.10. Medida de la estabilidad a la oxidación

4.2.10.1. Introducción a las técnicas de medida de la estabilidad a la oxidación

Las técnicas empleadas para medir la estabilidad a la oxidación de las fracciones destiladas del petróleo han sido aplicadas al biodiesel. Sin embargo, dadas sus diferencias estructurales, dichas técnicas han sufrido ligeras modificaciones o bien han sido reemplazados por otros métodos más fiables. Puesto que proceden de aceites vegetales, también se han aplicado métodos de análisis comúnmente empleados para evaluar la degradación de los aceites. En 2001 comenzó un proyecto de investigación denominado BIOTAB (BIOTAB, 2003) financiado por la Comisión Europea que tenía como finalidad el establecimiento de criterios claros y métodos analíticos para determinar la estabilidad del biodiesel. Los métodos de ensayo que se empleaban para el diésel no eran válidos para los ésteres alquílicos, y se requerían modificaciones. De este estudio surgieron métodos de ensayo como en EN 14112-03, que está incluida en los estándares ASTM D 6751 y EN 14214.

Otro estudio de referencia es el llevado a cabo entre 2003 y 2005 dirigido por R. McCormick, y financiado por el Laboratorio Nacional de Energías Renovables (NREL), perteneciente al Departamento de Energía de los Estados Unidos (McCormick y Westbrook, 2005). En él se realiza una evaluación y comparación de los métodos de ensayo aplicados para la determinación de la estabilidad a la oxidación de biodiesel sin mezclar. Cuando se comenzó el estudio, el estándar ASTM D 6751 no incluía ninguna especificación referida a la estabilidad del biodiesel, principalmente por la dificultad de establecer un método determinado. Se evaluaron métodos que habían sido aplicados a combustibles derivados del petróleo, y en caso de no ser adecuados para su uso con biodiesel, se propusieron algunas modificaciones.

Método del oxígeno activo (AOCS Method Cd 12-57)

Ha sido empleado durante 60 años, aunque sufriendo algunas modificaciones. Se hace pasar una corriente de aire por una determinada masa de muestra, que se encuentra a 97.8°F (36.6°C). Se analiza el índice de peróxidos de la muestra a intervalos regulares. Se expresa el resultado como el número de horas necesarias para que el índice de peróxidos alcance un

valor determinado. No se considera representativo puesto que el resultado es el tiempo transcurrido para la formación sólo de productos primarios de la oxidación.

Método para la estabilidad en almacenamiento de destilados medios a 43°C (ASTM D4625-04)

Es uno de los métodos ampliamente aceptado para medir la estabilidad en periodo prolongado de los destilados medios. El combustible es almacenado a 43°C en periodos no superiores a 24 semanas. Se acepta que una semana de almacenamiento en estas condiciones, equivale a un mes de almacenamiento a 17°C. Tras el almacenamiento, la muestra es filtrada para determinar la cantidad total de insolubles, que se expresa en base semanal. En el caso del biodiesel se emplean filtros de vidrio de borosilicato de 47 mm de diámetro (McCormick y Westbrook, 2005). Un ejemplo de los niveles máximos permitidos de presencia de insolubles es 1.5mg/100 ml a 6 semanas.

Sin embargo, los polímeros resultantes de la oxidación son altamente polares y por tanto solubles en el mismo biodiesel, por lo que es posible que no se detecten insolubles aun cuando la oxidación ha ocurrido. En caso de tratarse de mezclas biodiesel/diesel, estos polímeros serían insolubles y por tanto detectados. Sería necesario realizar modificaciones al método original. La dilución con algún solvente no polar, como el iso-octano, puede dar lugar a la precipitación de los polímeros originados (McCormick y Westbrook, 2005).

Método de ensayo para la estabilidad a la oxidación de combustibles destilados (Método acelerado) ASTM D2274

Su principio es similar al método del oxígeno activo y es utilizado en la industria petrolífera. La muestra se envejece durante 16 horas sometiéndola a una temperatura de 95°C y burbujeando oxígeno con un caudal de 3 l/h. Tras este proceso se enfría hasta temperatura ambiente y se filtra, separando así las sustancias insolubles.

Al igual que en método anterior (ASTM D4625), se requiere modificar el análisis para cuantificar también las sustancias derivadas de la oxidación que sean solubles en la muestra. El método propuesto en el informe del NREL, se emplea como solvente iso-octano. Evaporando el disolvente se obtiene la cantidad de sólidos inicialmente solubles. El total de insolubles es la suma de los obtenidos por filtración más los obtenidos por extracción con solvente, expresado en mg por 100 ml de muestra. Es un test muy fiable si se el foco del

análisis se basa en conocer la capacidad de un combustible para formar polímeros e insolubles.

Del Instituto Francés del Petróleo surgió una ligera modificación a esta técnica. Emplea menor cantidad de muestra, una temperatura de 120°C y el empleo de hilo de cobre como catalizador de la oxidación.

Calorimetría diferencial de barrido

(ASTM D5483, standard test method for oxidation induction time of lubricating greases by pressure differential scanning calorimetry).

Esta técnica se basa en la medición de calor absorbida o emitida por una muestra respecto a una de referencia cuando es sometida a un cambio de temperatura que originará cambios físicos y/o químicos. La muestra es pesada y colocada en una cámara de muestras hermética, donde se encuentra a una temperatura específica y constante bajo atmósfera inerte (normalmente nitrógeno). Se procede entonces a adicionar oxígeno de manera que se produce la oxidación. La oxidación de la muestra da lugar a un incremento marcado de la energía emitida, debido a la exotermicidad de las reacciones de oxidación. Esto provoca una desviación en la línea de base. Esta técnica es conocida como calorimetría diferencial de barrido presurizada. Cuando se realiza de manera isoterma, el tiempo requerido para detectar una reacción exotérmica, es denominado el tiempo de inducción.

Otro método consiste en mantener la muestra a temperatura constante durante unos minutos con un flujo de oxígeno determinado. Se procede entonces a calentar la muestra hasta temperatura elevada, con una velocidad constante de calentamiento. El tiempo para el que se observa un pico exotérmico (OT, del inglés onset time) se considera el periodo de inicio de la oxidación. La figura 4.17 muestra las etapas de la oxidación que tienen lugar durante un ensayo de calorimetría diferencial de barrido.

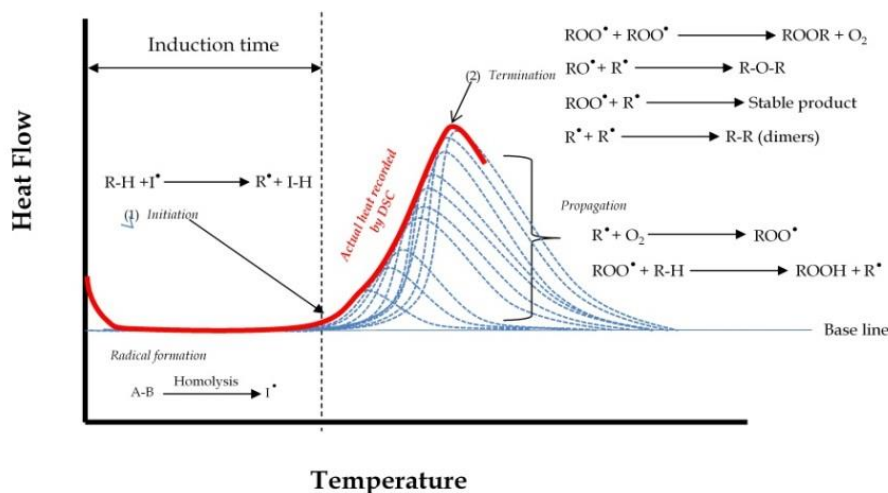


Figura 4.17. Calorimetría diferencial de barrido empleada para el análisis de la resistencia a la oxidación del biodiesel (Sandaña y Martínez-Monteagudo, 2013).

En la figura 4.18 se muestra una gráfica derivada del estudio de la resistencia oxidativa de ésteres metílicos derivados de aceite de soja mediante calorimetría diferencial de barrido presurizada. En este caso, las muestras fueron calentadas hasta 110°C a una velocidad de 10°C/min. Se compararon muestras con diferentes cantidades de antioxidantes fenólicos. La oxidación del biodiesel da lugar a los correspondientes picos. Una mayor cantidad de antioxidante, hace que la oxidación drástica aparezca a mayor temperatura (y por tanto a tiempo mayor), lo que indica una mayor resistencia oxidativa.

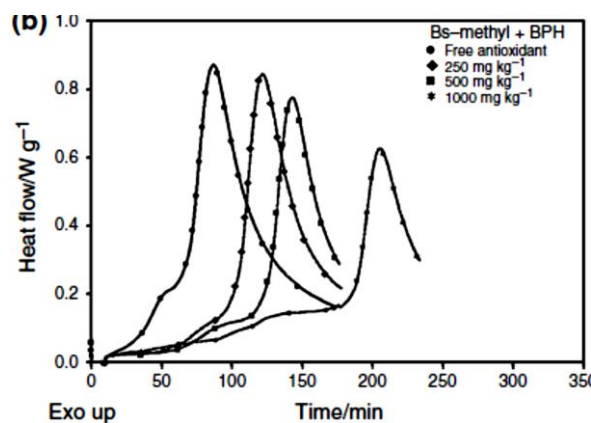


Figura 4.18. Calorimetría diferencial de barrido empleada para el análisis de la resistencia a la oxidación del biodiesel (Murta Valle et al., 2014).

Índice de estabilidad del aceite

Este método reemplaza el método de oxígeno activo, ya que resulta menos laborioso, más preciso y no requiere el uso de disolventes para la determinación de peróxidos y sólidos insolubles. En Europa y en Estados Unidos el método más empleado es el método Rancimat,

incluido en los estándares EN 14214, ASTM D6751 y ASTM D7467. El método Rancimat es una ligera modificación del método OSI (Oil Stability Index), que fue desarrollado con anterioridad (AOCS Cd 12b-92).

Se basa en provocar la oxidación de la muestra pasando una corriente de aire a través de la muestra de biodiesel a una temperatura constante (100, 110 o 120°C). Los volátiles derivados de la degradación pasan a una cubeta con agua destilada, modificando su conductividad. La conductividad aumenta y de su seguimiento y medición se obtiene una curva, y la tasa máxima de oxidación, se expresa como el tiempo de inducción. Este método es el empleado en el estudio de la estabilidad del biodiesel del presente estudio, por lo que será descrito en detalle más adelante (Sección 4.2.10.2).

El método EN 15751 se basa en el método Rancimat (EN 14112) pero se emplea para mezclas de biodiesel y diésel. Los tubos de ensayo son más largos que en el caso del método Rancimat, que servirían para la condensación de los volátiles generados por el diésel.

Método PetroOXY (ASTM D 7525-09)

La ventaja de este método es la gran rapidez de envejecimiento de la muestra (entre 30 y 60 min). La muestra se envejece en una cámara sellada a 700 kPa. Se calienta rápidamente hasta 140°C y se mantiene esta temperatura; la presión se monitoriza durante el proceso. En un principio, la presión aumenta rápidamente debido al calentamiento, y luego se da una caída de presión debida a que el oxígeno se consume al reaccionar con la muestra. El periodo de inducción se define como el tiempo que empleado en bajar de la presión máxima hasta un 10% por debajo de este valor. Este método contabiliza tanto los productos volátiles como los no volátiles de la oxidación. Se emplea para determinar la estabilidad tanto de biodiesel puro como de mezclas biodiesel-diésel.

4.2.10.2. Medida de la estabilidad a la oxidación mediante la norma europea UNE EN 14112

Fundamento

La estabilidad a la oxidación del biodiesel se evaluó con el método Rancimat, que corresponde a una determinación conductimétrica de los productos de disolución ácidos volátiles producidos durante la oxidación del biodiesel.

Norma

Pr EN 14112: Derivados de aceites y grasas. Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME). Determinación de la estabilidad a la oxidación (ensayo de oxidación acelerada).

Equipo

Este equipo cuenta con un bloque de calefacción y un soporte para las cubetas de medida que contienen agua destilada (figura 4.19). El equipo se programa para operar a 110°C y con un flujo de aire de 10 l/h.

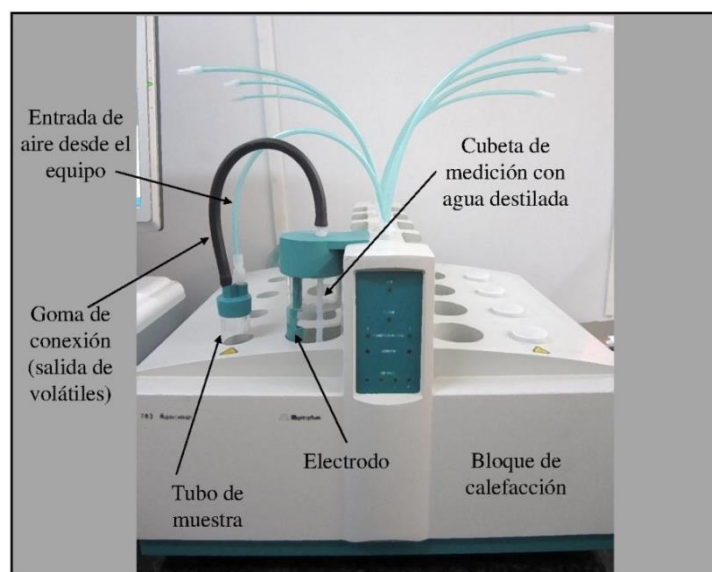


Figura 4.19. Equipo Rancimat® empleado para la medida de la estabilidad a la oxidación del biodiesel.

Preparación de la muestra

No es necesario ningún acondicionamiento previo de la muestra, si bien esta debe encontrarse en estado líquido, sin sólidos en suspensión y debe ser homogénea.

Análisis

Utilizando una pipeta, se introducen 3.0 gramos (± 0.05) de muestra en el vial de reacción. A este vial se incorpora un capilar que llega hasta el fondo del tubo, pero sin contacto con el mismo, que hará llegar el aire burbujeado a la muestra. Mediante el tapón de sellado que se coloca a cada vial, se conecta el extremo del capilar con la entrada de aire proveniente del equipo. Se usa una goma de conexión (de material inerte y flexible) para conectar la salida de los volátiles de la muestra con la cubeta de medición. Estas cubetas se rellenan con 50 ml de agua destilada y se cierran con los correspondientes tapones que llevan incorporados los

electrodos responsables de la medición de la conductividad del agua. El vial se introduce en el bloque calefactor y se procede al análisis. La figura 4.20 muestra el funcionamiento del equipo.

La corriente de salida de aire contiene ácidos orgánicos volátiles que pasan a las cubetas de medición mediante una cánula, de manera que aumenta la conductividad del agua destilada. El equipo realiza la monitorización de la conductividad del agua destilada contenida en las cubetas de medición. El periodo de inducción corresponde a la primera fase de la oxidación y en él tiene lugar la formación de peróxidos. Este periodo finaliza cuando se presenta el cambio máximo en la tasa de oxidación. Matemáticamente es calculado como el máximo de la segunda derivada de la conductividad respecto al tiempo.

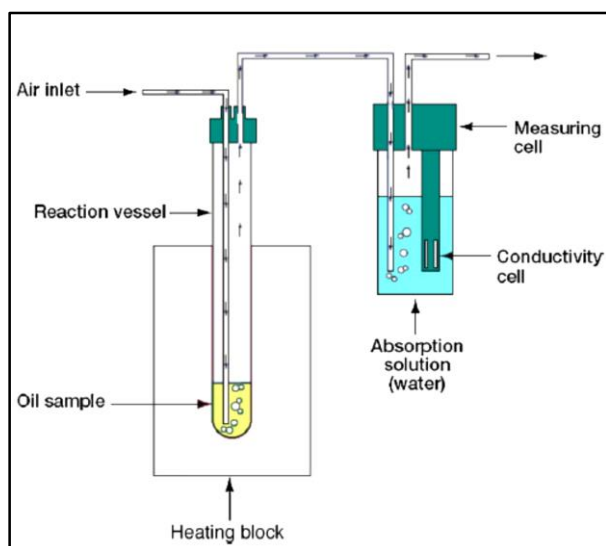


Figura 4.20. Detalle del funcionamiento del equipo Rancimat®.

Expresión de los resultados

El equipo proporciona gráficas de la monitorización de la conductividad del agua destilada en función del tiempo (figura 4.21.a) y determina mediante el cálculo del máximo de la segunda derivada el denominado periodo de inducción (figura 4.21.b), expresando dicho resultado en horas.

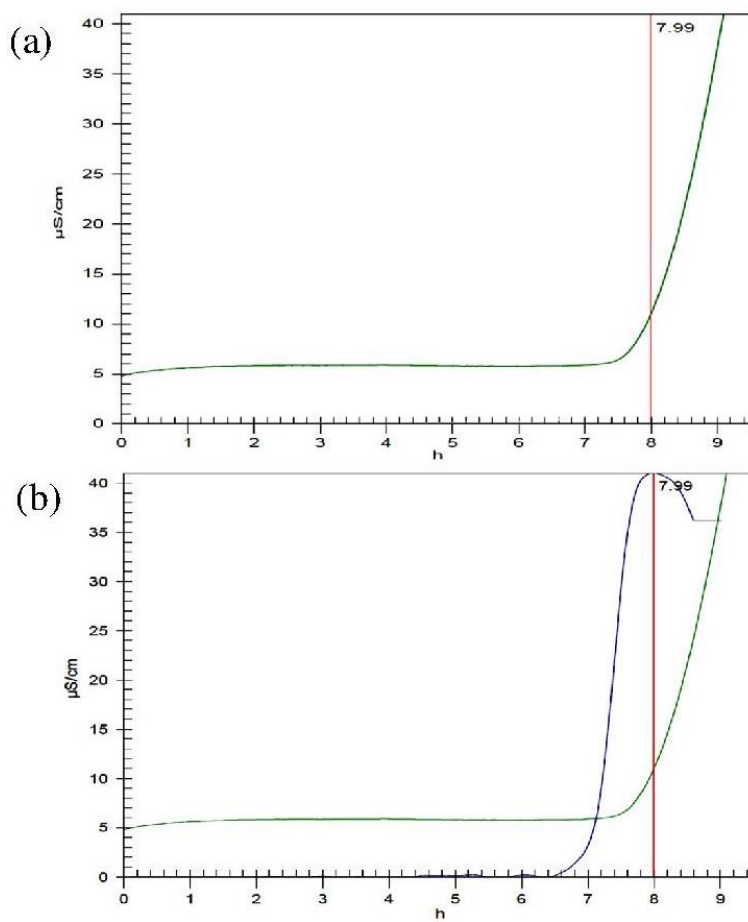


Figura 4.21. Ejemplo de gráficas obtenidas en la determinación del tiempo de inducción con el equipo Rancimat®. (a) Curva tiempo frente a conductividad. (b) Determinación del tiempo de inducción: máximo de la segunda derivada.

4.3. Referencias

- BIOSTAB. Stability of Biodiesel. Used as a Fuel For diesel Engines and Heating Systems. Informe publicado por BLT Wieselburg, Austria (2003)
- Dunn, R. (2008). "Crystallization behaviour of fatty acid methyl esters" J Am Oil Chem Soc 85: 961-972.
- Freedman B., Kwolek, W.F., Pryde, E.H. (1986). "Quantitation in the analysis of transesterified soybean oil by capillary gas chromatography" J. Am Oil Chem Soc 65: 1370-1375.
- Knothe G. (2004). Fuel Properties en Knothe G, Krahl J, Van Gerpen J, The Biodiesel Handbook (pp. 76-165). Illinois: AOCS Press.
- McCormick R.L., Westbrook S.R. (2005). "Empirical Study of the Stability of Biodiesel and Biodiesel Blends". Informe técnico, National Renewable Energy Laboratory.
- Murta Valle M.L., Leonardo R.S., Dweck J. (2014). "Comparative study of biodiesel oxidation stability using Rancimat, PetroOXY, and low P-DSC" J Therm Calorim 116: 113-118.
- Ragonese, C., Tranchida, P.Q., Sciarrone, D., Mondello, L. (2009). "Conventional and fast gas chromatography analysis of biodiesel blends using an ionic liquid stationary phase" J Chromatogr A 1216: 8992-8997.
- Sandaña M.D.A., Martínez-Monteagudo S.I. (2013). "Oxidative Stability of fats and oils measured by differential scanning calorimetry for food and industrial applications". En: Elkordy A (Ed.). Applications of Calorimetry in a Wide Context - Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry (capítulo 19).
- Trathnigg B., Mittelbach M. (1990). "Analysis of triglyceride methanolysis mixtures using isocratic HPLC with density detection" J Liq Chromatogr 13: 95-105.

V. ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD A LA OXIDACIÓN

5.1. Estudio de la estabilidad a la oxidación y eficacia de aditivos comerciales	139
5.1.1. Estabilidad a la oxidación de muestras sin aditivos	139
5.1.2. Estabilidad a la oxidación de muestras con aditivos	143
5.1.3. Evolución de la estabilidad a la oxidación en función de la concentración de aditivo	150
5.2. Estudio de la resistencia frente a la oxidación catalizada por metales	150
5.3. Estudio de la estabilidad a la oxidación y eficacia de aditivos comerciales después de almacenamiento	152
5.3.1. Estabilidad a la oxidación de las muestras sin aditivo tras almacenamiento prolongado	152
5.3.2. Estabilidad a la oxidación de las muestras con aditivo tras almacenamiento prolongado	153
5.4. Referencias.....	156

NOTA PREVIA

Aunque la nomenclatura completa pueda encontrarse al inicio de este trabajo, para facilitar la comprensión se incluye al inicio de cada capítulo la nomenclatura correspondiente que ha sido empleada en el mismo.

Aunque en la norma Europea 14214 la denominación “biodiesel” sólo es aplicable a los ésteres metílicos de ácidos grasos que cumplan con las especificaciones requeridas en la misma, en este trabajo se empleará indistintamente “biodiesel” o “ésteres metílicos”.

NOMENCLATURA EMPLEADA EN ESTE CAPÍTULO

HOSME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de girasol, con alto contenido en ácido oleico (del inglés high oleic sunflower methyl ester).

IP: periodo de inducción medido acorde al método Rancimat (del inglés Induction Period).

PME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de palma (del inglés palm methyl ester).

RME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de colza (del inglés rapeseed methyl ester).

SBME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de soja (del inglés soybean methyl ester).

A su vez, los aditivos serán identificados por su componente principal, aunque cuenten en su composición con otras sustancias.

ADITIVO 1: Fenol impedido.

ADITIVO 2: Mezcla amina/fenol impedido.

ADITIVO 3: Galato de propilo.

ADITIVO 4: Tocoferoles.

5. Estudio de la estabilidad a la oxidación del biodiesel

La primera parte consistió en la identificación y caracterización de los aceites vegetales empleados. En la tabla 5.1 se muestran las propiedades analizadas en el laboratorio mediante los distintos métodos descritos en el capítulo 4. El perfil lipídico de los aceites fue analizado por un laboratorio externo.

Ácido graso (% m/m)		Aceite vegetal			
		Soja	Colza	Girasol Alto Oleico	Palma
Butírico	<i>C4:0</i>				
Caproico	<i>C6:0</i>				
Caprílico	<i>C8:0</i>				
Caproleico	<i>C10:0</i>				
Laúrico	<i>C12:0</i>				0.1
Mirístico	<i>C14:0</i>	0.3	0.1		2.5
Palmítico	<i>C16:0</i>	10.9	5.1	3.5	40.8
Palmitoleico	<i>C16:1</i>			0.1	
Esteárico	<i>C18:0</i>	3.2	2.1	3.1	3.6
Oleico	<i>C18:1n9</i>	24	57.9	82.7	45.2
Linoleico	<i>C18:2n6</i>	54.5	24.7	9	7.9
Linolénico	<i>C18:3n3</i>	6.8	7.9	0.1	
Araquídico	<i>C20:0</i>	0.1	0.2	0.3	
Gadoleico	<i>C20:1</i>		1	0.3	
Behénico	<i>C22:0</i>		0	0.8	
Erúico	<i>C22:1n9</i>		0.2		
Lignocérico	<i>C24:0</i>			0.2	
Total saturados		14.5	7.5	7.9	47.0
Saturados <i>C4-C14</i>		0.3	0.1	0.0	2.6
Saturados <i>C16-C24</i>		14.2	7.4	7.9	44.4
Total insaturados		85.3	91.7	92.2	53.1
Monoinsaturados		24.0	59.1	83.1	45.2
Poliinsaturados (2,3)		61.3	32.6	9.1	7.9
Propiedades		Soja	Colza	Girasol Alto Oleico	Palma
Acidez (mg KOH/g)		0.18	0.17	0.24	0.17
Índice de Yodo (gI ₂ /100g)		134	104	91	56
Peróxidos (meq/kg)		1.1	2.98	2.5	4.1
Periodo de Inducción (h)		7	9	10	25
Viscosidad (mm ² /s)		30.74	37.32	40.55	109.5
Humedad (mg/kg)		0.01	0.01	0.02	0.01

Tabla 5.1. Propiedades de los aceites vegetales.

5.1. Estudio de la estabilidad a la oxidación y eficacia de aditivos comerciales

Mediante el procedimiento descrito en la sección 3.1.1. *Obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales*, se obtuvieron los ésteres metílicos derivados de los aceites vegetales: biodiesel de soja (SBME), de colza (RBE), de girasol alto oleico (HOSME) y de palma (PME). Las condiciones de operación y etapas de purificación también fueron descritas en la misma sección.

5.1.1. Estabilidad a la oxidación de muestras sin aditivos

En primer lugar se midieron las propiedades de los ésteres metílicos obtenidos mediante el lavado con agua destilada y el lavado con disolución 0.1 M de ácido cítrico. El porcentaje de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) se obtuvo mediante la identificación de los compuestos de referencia monooleína, dioleína y trioleína. Los cromatogramas y cálculos se pueden consultar en el Anexo I.

La única propiedad que se vio modificada fue la estabilidad a la oxidación. El resto de las propiedades no se vieron modificadas de modo significativo cuando se realizó el lavado con ácido cítrico. La introducción en el proceso de un ácido orgánico podía provocar que los ésteres resultantes presentaran un valor de acidez mayor, debido al consumo de reactivo por parte del ácido cítrico en el análisis. Sin embargo, como aparece en la Tabla 5.2, este valor no aumenta en las muestras lavadas con ácido cítrico (Serrano et al., 2013).

La estabilidad a la oxidación de los ésteres metílicos sigue el orden esperando según el perfil lipídico de la materia prima de partida (ver figura 5.1). El SBME tiene un menor contenido en ácidos grasos insaturados totales que el RME y el HOSME (85.3% frente a 91.7 y 92.2%, respectivamente). Sin embargo, su contenido en ácidos grasos poliinsaturados (ácido linoleico y linolénico) es mucho mayor (61.3% frente a 32.6 y 9.1%, respectivamente). Como ya se ha explicado, las posiciones bisalílicas (presenten en cadenas hidrocarbonadas con al menos dos dobles enlaces no conjugados) son más fácilmente atacables por los radicales libres que las posiciones alílicas. Los dobles enlaces a cada lado de una posición bisalílica atraen los electrones cercanos, de manera que el hidrógeno de dicha posición es más reactivo y fácilmente extraíble por un iniciador de radicales libres.

5. Estudio de la estabilidad a la oxidación del biodiesel

Propiedad	Lavado	Límites (EN14214)		SBME	RME	HOSME	PME
		Min	Max				
FAME (% m/m)	Agua	96.5		>97	>97	>97	>97
	Ácido cítrico			>97	>97	>97	>97
Acidez (mgKOH/g)	Agua		0.5	0.16	0.13	0.14	0.15
	Ácido cítrico			0.34	0.18	0.21	0.2
Humedad (mg/kg)	Agua		500	< 500	< 500	< 500	< 500
	Ácido cítrico			< 500	< 500	< 500	< 500
Índice de Iodo (gI ₂ /100g)	Agua		120	130	114	87	51
	Ácido cítrico			130	113	87	51
Peróxidos (meq/kg)	Agua			4.24	2.43	3.98	1.51
	Ácido cítrico			4.91	5.09	3.4	2.4
Periodo de Inducción (h)	Agua	8		2.9	4.6	5.1	8.1
	Ácido cítrico			6	8.1	14.4	24.5
Viscosidad (mm ² /s)	Agua	3.5	5	4.8	4.7	4.8	4.9
	Ácido cítrico			4.8	4.6	4.9	4.9

Tabla 5.2. Propiedades de los ésteres metílicos.

De igual manera, entre el RME y el HOSME no hay diferencias significativas si se atiende al contenido en ácidos grasos saturados e insaturados. Sin embargo, entre los insaturados, predomina el contenido en poliinsaturados en el caso del RME (32.6% para el RME frente al 9.1% para el HOSME). Por último, los esteres metílicos derivados de aceite de palma, PME, se distribuyen casi en igual proporción entre saturados e insaturados, estando esta última fracción compuesta principalmente por monoinsaturados, presentando por esta razón mayor estabilidad a la oxidación.

Aunque no en la misma proporción, la estabilidad a la oxidación de todas las muestras resultó mayor con el uso de ácido cítrico como agente de lavado. En el caso de SBME y RME, el valor del periodo de inducción resultó ser el doble, mientras que estos valores se triplicaron en las muestras de HOSME y PME.

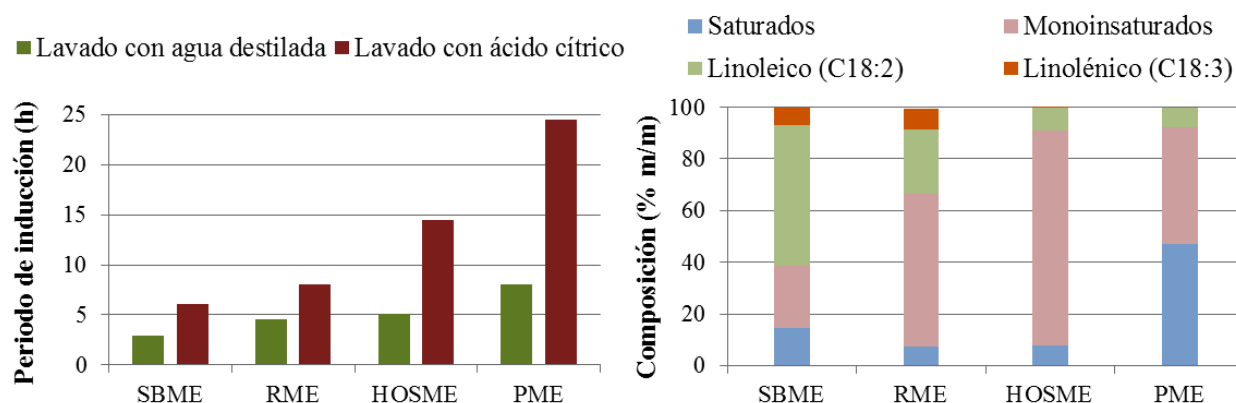


Figura 5.1. Valores del periodo de inducción de muestras lavadas con agua y muestras lavadas con ácido cítrico (a). Composición de los aceites vegetales empleados (b).

Existen pocos estudios donde se analice la capacidad de los ácidos carboxílicos para capturar o “secuestrar” los radicales libres que intervienen en las reacciones de auto-oxidación (Kayashima y Katayama, 2002; Chang y Chen, 2004). Ácidos como el málico, cítrico o tartárico demostraron tener cierta capacidad secuestradora cuando ésta se evalúa usando el método DMPD (secuestro del catión N,N-dimetil-p-fenilendiamina) (Lo Scalzo, 2010). Sin embargo, el ácido cítrico no resultó efectivo cuando se sometió al método DPPH (secuestro del 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Lo Scalzo, 2010; Berger et al., 2008). Estos resultados se coinciden con los obtenidos por Gil et al. al evaluar la actividad antioxidante del zumo de granada (Gil et al., 2008). En dicho estudio, los ácidos orgánicos presentes en el zumo de granada, especialmente el ácido cítrico, presentaban actividad antioxidante en el caso de emplear el método DMPD, mientras no presentaban ninguna actividad si se recurría al método DPPH. En ninguna de las publicaciones consultadas se ha podido encontrar una explicación ante esta diferencia de resultados.

Al emplear el método Rancimat para evaluar el potencial antioxidante del ácido cítrico en aceites vegetales, varios estudios coinciden en un aumento de la estabilidad a la oxidación. Sin embargo, este aumento es muy bajo comparado con los resultados de el presente estudio, consiguiéndose un periodo de inducción 1.16 o 1.3 veces mayor que en el caso de aceite que no contenía ácido cítrico (Rizİner Hrasİ et al., 2000; Irwandi et al., 2000). Aun así, la mayoría de los estudios se centran en evaluar la capacidad del ácido cítrico para formar quelatos con metales.

En cuanto a la producción de biodiesel, el uso de una disolución de ácido cítrico como agente de lavado de los ésteres metílicos aparece en diversas publicaciones (Canoira et al., 2008) y es un método comúnmente empleado a escala comercial, aunque hasta la fecha no se había publicado ningún estudio donde se recogiera el incremento de la estabilidad a la oxidación respecto al uso de agua como agente de lavado. El lavado ácido permite la neutralización del exceso de catalizador y la desestabilización de los posibles jabones formados durante la transesterificación, facilitando así su eliminación del medio de reacción (Van Gerpen, 2005; Atadashi et al., 2011). El lavado de los ésteres metílicos tras la decantación de la glicerina se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección 3.1.1.2. *Lavado de los ésteres metílicos*. No se realizó un estudio cuantitativo del mismo, pero se pudo comprobar que empleando agua destilada como agente de lavado, se requería un volumen de agua similar al volumen de ésteres metílicos. Al emplear disolución de ácido cítrico monohidratado 0.1 M, este volumen se reducía aproximadamente a la mitad.

Los aceites vegetales pueden contener trazas de metales, aunque su cantidad viene limitada por la legislación. Los metales presentes en el aceite pueden proceder del suelo donde se desarrollan las plantas o de los equipos de procesado (cosecha, almacenamiento y refinado). El proceso de refinado, especialmente las etapas de neutralización y blanqueo producen una separación efectiva de los metales. Aun así, pueden encontrarse trazas de metales en aceites comestibles. Los aceites empleados en este estudio han sido refinados y son aptos para consumo humano, por lo que si contienen metales, estos se encontrarán por debajo de la concentración máxima permitida (Fe: 10 ppm, Cu: 0.4 ppm, As: 0.1 ppm, Pb: 0.1 ppm).

En la bibliografía consultada, el efecto catalítico de los metales puede tener lugar incluso a muy bajas concentraciones de los mismos. Sarin et al. (Sarin et al., 2010) evaluaron la estabilidad a la oxidación de biodiesel obtenido a partir de aceite de *jatropha* cuando se encontraba contaminado por metales. Con una concentración de cobre de 0.5 ppm la estabilidad disminuyó de 4 a 2 horas. Es posible que el ácido cítrico actúe en la etapa de purificación capturando estos metales, de manera que sean eliminados del medio de reacción con la disolución de lavado y demás impurezas. Al no estar presentes en el biodiesel producido, el biodiesel purificado con ácido cítrico presentaría mayor estabilidad a la oxidación.

5.1.2. Estabilidad a la oxidación de muestras con aditivos

Una vez obtenido el biodiesel, se añadieron diferentes aditivos antioxidantes comerciales (ver sección 3.1.2. *Adición de aditivos antioxidantes*) en concentraciones de 250, 500, 1000, 2000 y 5000 ppm, y se analizó la estabilidad a la oxidación. La composición y principales características de los aditivos se resumieron en la sección 3.1.2 del presente trabajo.

➤ ADITIVO 1: FENOL IMPEDIDO

En la figura 5.2 se muestran los resultados obtenidos tras la adición de diferentes cantidades de aditivo 1 a los ésteres metílicos de las materias primas empleadas. En las gráficas se representan los valores de los periodos de inducción, expresados en horas, mientras que en las tablas se muestran los “Factores de Mejora”, que están definidos como la relación IP/IP_0 , siendo IP el periodo de inducción para una cantidad de aditivo dada e IP_0 el periodo de inducción obtenido sin la adición de ningún aditivo. De esta manera, el factor de mejora es una indicación del aumento relativo de la resistencia a la oxidación proporcionada por el aditivo en cuestión.

La adición del aditivo 1, sólo demostró efectividad cuando el lavado de la fase éster se había realizado con agua destilada. Este aumento es mayor en el caso de HOSME y PME. Para concentraciones menores a 1000 ppm, la mejora en términos relativos es similar en las 4 muestras de ésteres. A partir de 1000 ppm, la adición de concentraciones de aditivo hasta 5000 ppm no tiene efecto en los valores de estabilidad del RME. Sí que presenta efectividad en el SME, y en mayor medida en las muestras de HOSME y PME.

ADITIVO 1

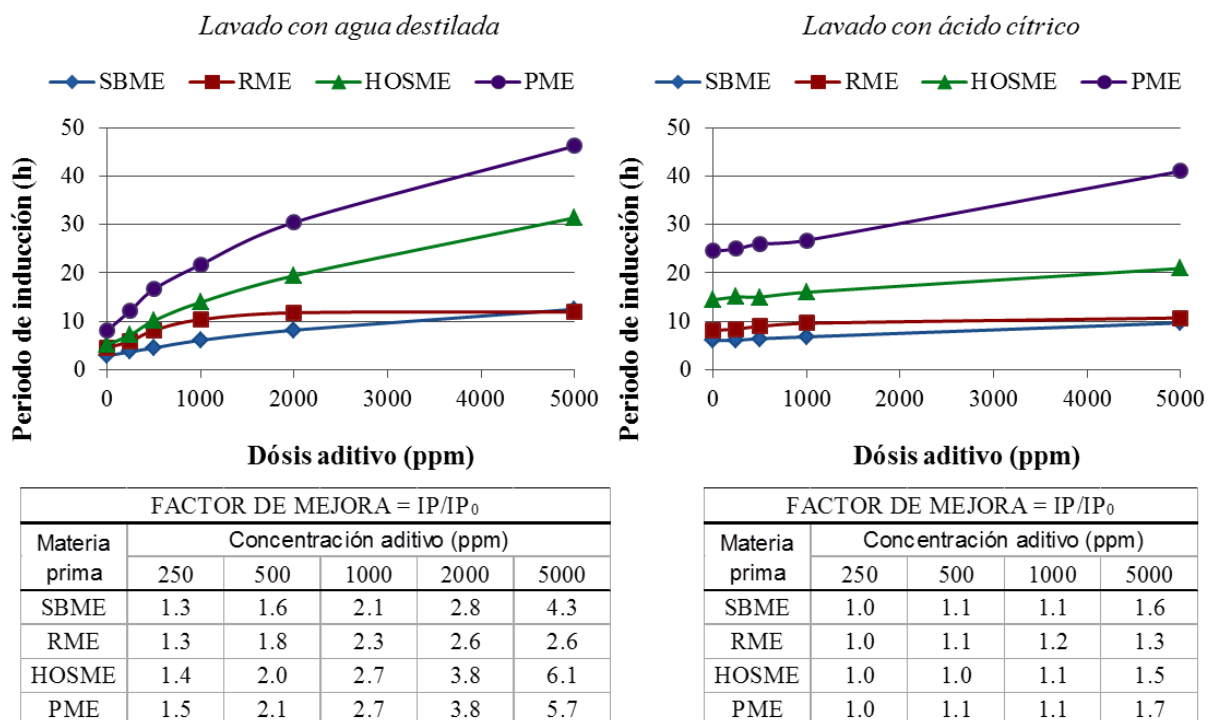


Figura 5.2. Estabilidad a la oxidación con el aditivo 1.

En el caso del lavado con cítrico, la adición de aditivo no aumentó de manera significativa la estabilidad a la oxidación de los ésteres. Tan solo en el caso de añadir 5000 ppm pudo observarse un ligero aumento del periodo de inducción, aunque en términos relativos fue mucho menor que la observada en las muestras lavadas con agua destilada.

La posición de las sustituciones de grupos alquilo es una de las características que otorga efectividad a los antioxidantes fenólicos. Se empleó un aditivo compuesto por el 4-(2-metilprop-2-enil) fenol, que no presenta impedimento estérico (ver Figura 5.3). Este aditivo no se incluye en el presente estudio pero los resultados pueden consultarse en el Anexo II. Las sustituciones de grupos alquilo en posiciones *orto* (referida al grupo hidroxilo) aumentan considerablemente la actividad antioxidante comparada con las sustituciones en posición *para* (Weng y Huang, 2014).

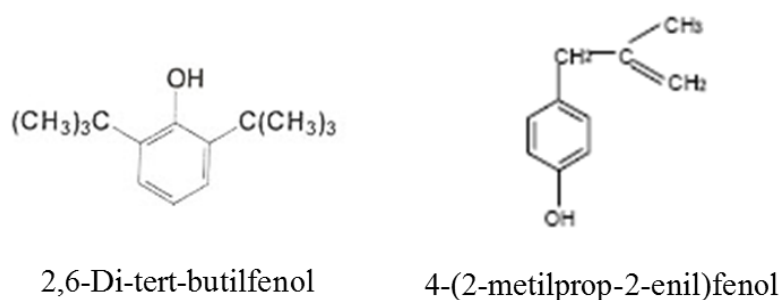


Figura 5.3. Estructura del 2,6-di-tert-butilfenol (compuesto del aditivo 1) y del 4-(2-metilprop-2-enil)fenol, como ejemplo de sustituciones alquílicas en posición *orto* y *para* (respecto al grupo hidroxilo –OH), respectivamente.

➤ ADITIVO 2: MEZCLA AMINA/FENOL IMPEDIDO

En el caso de SBME y RME, la mejora causada por este aditivo se acerca a la producida por el aditivo 1. En el biodiesel HOSME y PME, resulta más efectivo, especialmente a elevadas concentraciones. En la bibliografía consultada acerca del uso de aminas como antioxidantes, existen estudios en los que presenta mayor efectividad que antioxidantes fenólicos con dos grupos hidroxilo (Focke et al., 2012) y otros en los que resulta menor (Sarin et al., 2010), aunque mayor en el caso de compuestos fenólicos con un único grupo hidroxilo.

ADITIVO 2

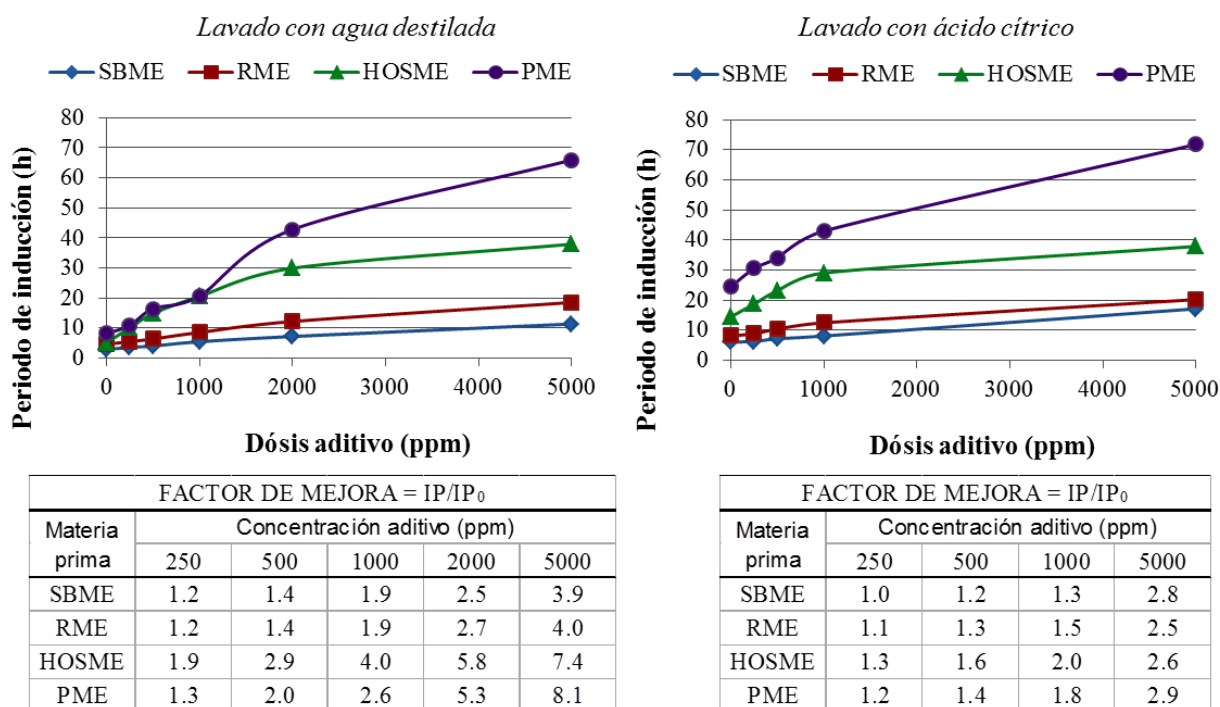


Figura 5.4. Estabilidad a la oxidación con el aditivo 2.

Cuando se midió la estabilidad de las muestras con aditivo que habían sido purificadas con ácido cítrico, se observó que ocurría lo mismo que con el aditivo 1: aunque las muestras mostraban un aumento en el periodo de inducción, en términos relativos este era mucho menor que en las muestras lavadas con agua destilada.

➤ ADITIVO 3: GALATO DE PROPILO

Como se muestra en la Figura 5.5, el aditivo 3 presenta mejor efectividad incluso con la mínima cantidad añadida (250 ppm). En las 4 muestras estudiadas, produce aumentos en el periodo de inducción muy por encima de los anteriores aditivos testados, y esta diferencia se hace mayor a medida que se aumenta la dosis de antioxidante. Este aditivo tiene en su formulación galato de propilo. Es un compuesto fenólico, pero en comparación con los fenoles contenidos en los aditivos 1 y 2, tiene tres grupos hidroxilo, de manera que ofrece más grupos disponibles para formar compuestos estables al interactuar con los radicales libres. Su alta efectividad respecto a otros compuestos antioxidantes ha sido demostrada en anteriores estudios (Mittelbach y Schober, 2003; Tang et al., 2008).

ADITIVO 3

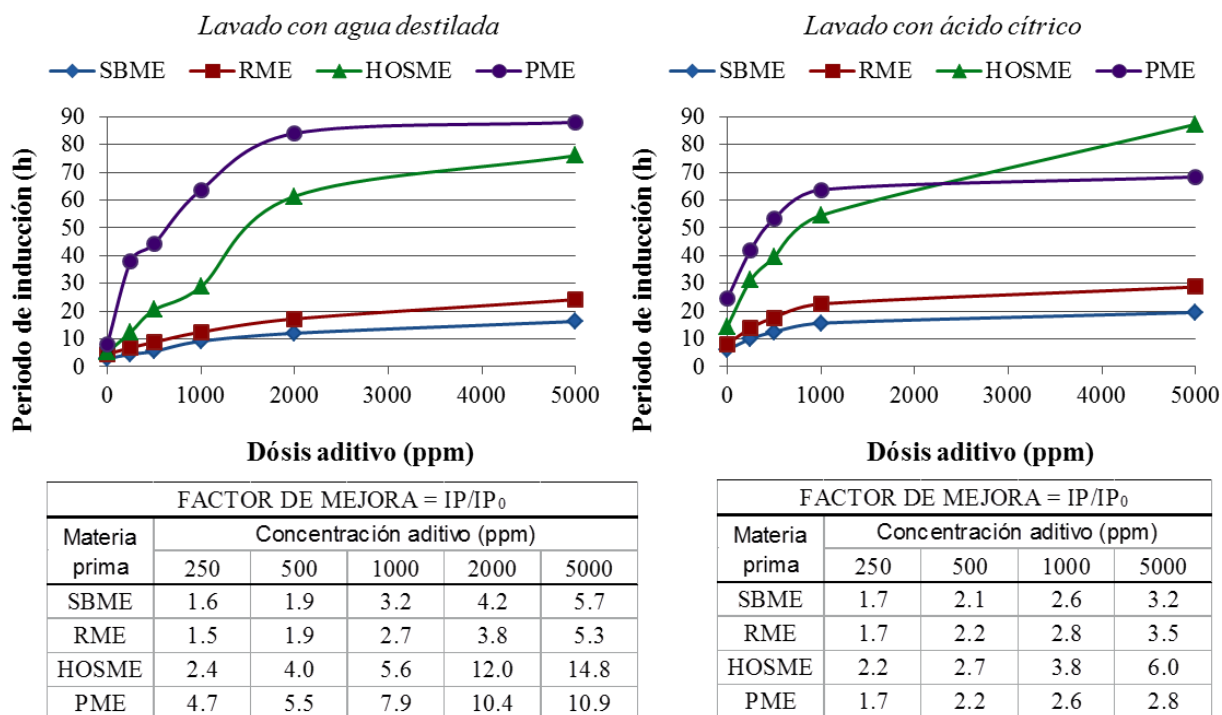


Figura 5.5. Estabilidad a la oxidación con el aditivo 3.

Parece que los grupos hidroxilo responsables de retrasar la oxidación de lípidos deben encontrarse unidos a un anillo aromático. En un estudio publicado en 2013 se comparaba la actividad antioxidante en biodiesel de aceite de colza de dos ésteres sintetizados a partir de ácido kójico (5-hidroxi-2-hidroximetil- γ -pirona), un ácido obtenido por fermentación fúngica (El-Boulifi et al., 2013). La introducción de una cadena hidrocarbonada aumenta la liposolubilidad del compuesto. En el mencionado estudio se comparó la actividad antioxidante del ricinoleato del ácido kójico y del oleato del ácido kójico. La estructura de estos compuestos se muestra en la figura 5.6, siendo la única diferencia el grupo hidroxilo en la cadena hidrocarbonada.

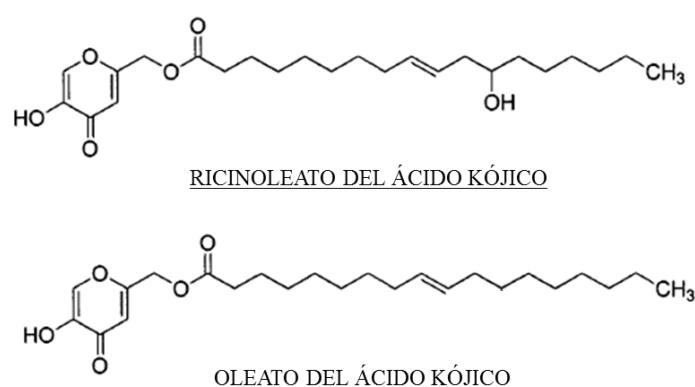


Figura 5.6. Estructura del ricinoleato del ácido kójico y del oleato del ácido kójico.

La adición de estos compuestos a biodiesel de colza resultó en un aumento similar de la estabilidad a la oxidación, por lo que, a priori, puede deducirse que el grupo hidroxilo en la fracción grasa (cadena hidrocarbonada) no producía ningún retraso en la oxidación. Los resultados pueden consultarse en el Anexo VI, donde se incluye el artículo completo.

Es preciso remarcar que el mecanismo de actuación de los antioxidantes aún no se conoce con exactitud. La velocidad de reacción de los antioxidantes con los radicales libres depende de la estructura de la molécula antioxidante. Algunas moléculas, reaccionan muy rápido y son capaces de reducir un número de moléculas de radicales libres igual al número de grupos hidroxilo disponibles. Sin embargo, la mayoría de los compuestos reaccionan con mayor lentitud y el mecanismo es más complejo. El factor estequiométrico, número de grupos hidroxilo en la molécula, no explica en su totalidad la eficacia de los antioxidantes ya que intervienen factores como reactividad de la molécula, la naturaleza de los sustituyentes,

velocidad de reacción, posibles reacciones secundarias e incluso el método de ensayo empleado (Brand-Williams et al., 1995).

➤ ADITIVO 4: TOCOFEROLES

Este aditivo es comercializado como antioxidante natural, compuesto principalmente por mezcla de tocoferoles, aunque también presentaba galato de propilo y palmitato de ascorbilo en su formulación. La eficacia de este antioxidante fue muy elevada. Sin embargo, previos estudios sobre la capacidad protectora de distintos antioxidantes habían coincidido en la baja efectividad de los tocoferoles respecto a otros antioxidantes como son los antioxidantes fenólicos (BHA y BHT especialmente). En un estudio se comparó la efectividad del α -tocoferol, BHT y TBHQ en retrasar la oxidación de ésteres metílicos de aceite de palma. Respecto a los antioxidantes sintéticos, la adición de tocoferol no hizo aumentar de manera significativa el periodo de inducción (IP) (Liang et al., 2005). El mismo patrón de efectividad se observó en otros estudios que empleaban ésteres de aceite de soja (Dunn, 2005) y ésteres derivados de aceites enriquecidos con ácido oleico (Merril et al., 2008) y aceite de jatropha (Sarin et al., 2010).

ADITIVO 4

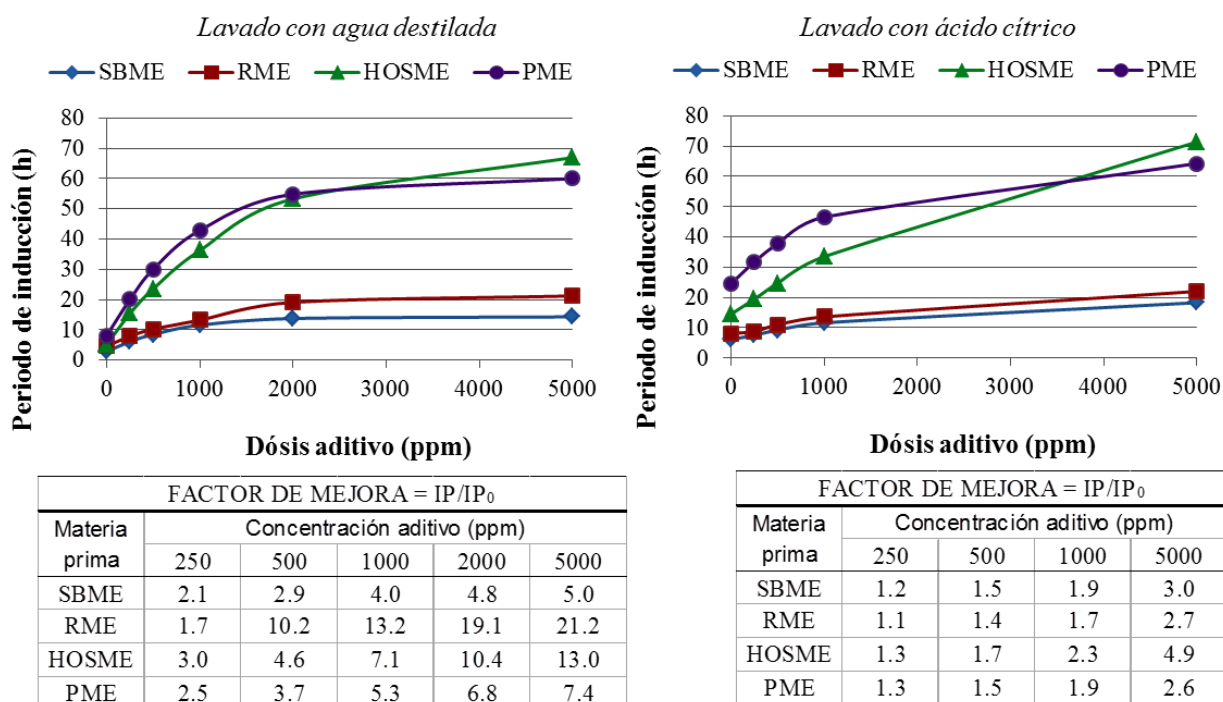


Figura 5.7. Estabilidad a la oxidación con el aditivo 4.

Para identificar la contribución de los tocoferoles en la protección del aditivo frente a la oxidación de los ésteres, se realizaron pruebas añadiendo tocoferoles puros (mezcla de isómeros con 95% de pureza). Los resultados se muestran en la Figura 5.8. En concentración de 1000 ppm, el periodo de inducción de ésteres metílicos de aceite de colza, RME resultó ser de 5.4 horas, mientras que la misma concentración del aditivo 4 resultaba en 13.2 horas. Se midió la estabilidad a la oxidación del RME añadiendo 1000 ppm de palmitato de ascorbilo y el IP medido fue de 6.4h, mayor incluso que en la caso de la mezcla de tocoferoles. Por último, se midió la estabilidad oxidativa del RME con una mezcla en partes iguales (en peso) de tocoferoles y palmitato de ascorbilo. Esta mezcla produjo un efecto multiplicador, ya que el IP (8.3h) fue mayor que el obtenido tanto con tocoferoles como con palmitato de ascorbilo empleados puros.

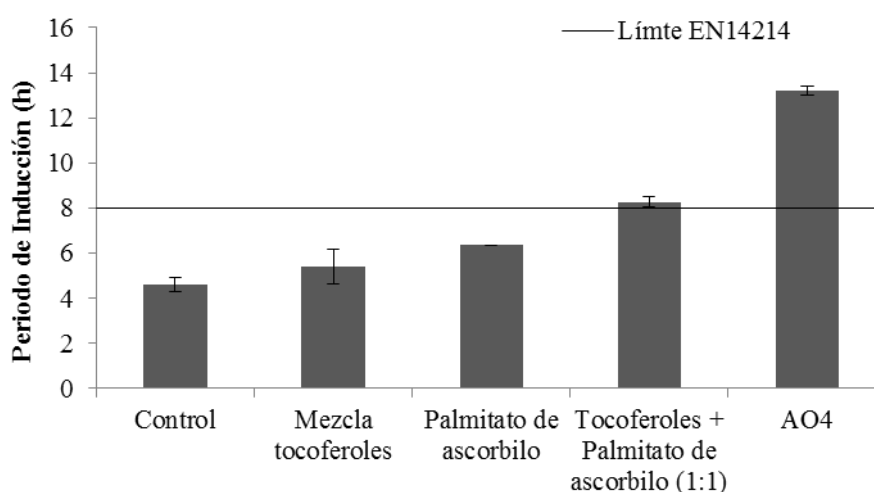


Figura 5.8. Estabilidad a la oxidación del RME lavado con agua destilada, y tras la adición de 1000 ppm de: mezcla de tocoferoles, palmitato de ascorbilo, mezcla tocoferoles-palmitato de ascorbilo (1:1) y aditivo 4.

Si se comparan estos resultados con el obtenido tras la adición del aditivo 4, el elevado valor de IP no puede explicarse por la sinergia resultante de la combinación tocoferol/palmitato de ascorbilo, sino, posiblemente, por la actividad del compuesto restante, galato de propilo, cuya presencia principal en el aditivo 3 ha demostrado elevada eficacia en retrasar la oxidación.

5.1.3. Evolución de la estabilidad a la oxidación en función de la concentración de aditivo

El periodo de inducción de las muestras aumenta con la cantidad de aditivo añadido. Las curvas resultantes de representar el periodo de inducción frente a la concentración de aditivo muestran una primera fase con un aumento lineal, seguido de una fase asintótica, donde el aumento en la concentración de aditivo no implica un aumento significativo de la estabilidad frente a la oxidación. Los parámetros que determinan estas dos fases varían con el aditivo añadido, la materia prima de origen del biodiesel y el agente de lavado empleado en la purificación. En la mayoría de los casos, los datos han sido ajustados a una ecuación exponencial:

$$IP = IP_0 + A \cdot (1 - \exp(-C_{AO}/B))$$

Donde IP es el período de inducción (h), IP_0 es el periodo de inducción de la muestra sin aditivo (h), C_{AO} es la concentración de aditivo (ppm) y A y B son parámetros obtenidos del ajuste (expresados en h y ppm, respectivamente). En algunos casos, los datos no se ajustaban a una ecuación exponencial, y se ajustaron a la ecuación lineal:

$$IP = IP_0 + A \cdot C_{AO}$$

Los parámetros obtenidos para cada aditivo empleado y cada materia prima pueden consultarse en el Anexo V de este trabajo, que incluye el artículo publicado con los resultados.

5.2. Estudio de la resistencia frente a la oxidación catalizada por metales

El ácido cítrico es un agente quelante capaz de secuestrar los iones metálicos, impidiendo que catalicen procesos de oxidación. Durante el uso del biodiesel como combustible, éste entra en contacto con diferentes materiales de los que están contruidos tanto las conducciones y depósitos como los elementos del motor. Los materiales metálicos pueden ser aleaciones férreas (acero y hierro fundido), aleaciones no férreas, de aluminio o cobre. Los materiales no metálicos más representativos son elastómeros, plásticos, papel, etc. Entre las aleaciones metálicas, aquellas que contienen cobre son más susceptibles de sufrir corrosión debido a la acción del biodiesel.

El biodiesel es más susceptible a la oxidación catalizada por metales que el gasóleo. Incluso en bajas concentraciones (~ 1 ppm), la presencia de metales da lugar a muy bajos valores del periodo de inducción de las muestras.

Para analizar si el lavado con ácido cítrico podía influir o no en la oxidación del biodiesel en presencia de metales, se ha escogido el cobre, debido a su alto efecto catalítico. Existen dos maneras de medir la capacidad oxidante de los metales en función de su estado en el biodiesel, es decir, la oxidación puede tener lugar en fase heterogénea u homogénea. En el primer caso se emplean metales en estado sólido y en el segundo compuestos organometálicos, de manera que puede estudiarse la influencia de la cantidad de iones metálicos disueltos. Los estudios que investigan la oxidación en fase homogénea emplean concentraciones de metales de unas pocas ppm (Sarin et al., 2010; Santos et al., 2011; Siddharth y Sharma., 2012) mientras que los estudios en fase heterogénea consultados añaden entre 1 y 20 mg de metal sólido en 5 gramos de biodiesel (Knothe y Dunn, 2003). Este estudio se ha realizado con cobre sólido y se han añadido de 0.2 a 3 mg en 3 gramos de biodiesel, ya que esta es la cantidad de muestra empleada para medir la estabilidad a la oxidación. Se analizó la estabilidad a la oxidación de muestras de biodiesel de colza (RME) lavadas con agua destilada y ácido cítrico. Los resultados aparecen en la figura 5.9 y como puede verse, en el caso de emplear ácido cítrico en el lavado, la estabilidad a la oxidación apenas sufre variación. El valor del periodo de inducción del RME lavado con agua destilada, se redujo a la mitad con 0.2 mg de cobre añadidos. A partir de 0.7 mg, este valor sigue disminuyendo pero de una manera menos drástica, llegando a un valor de 0.92 horas con una cantidad de cobre de 3 mg.

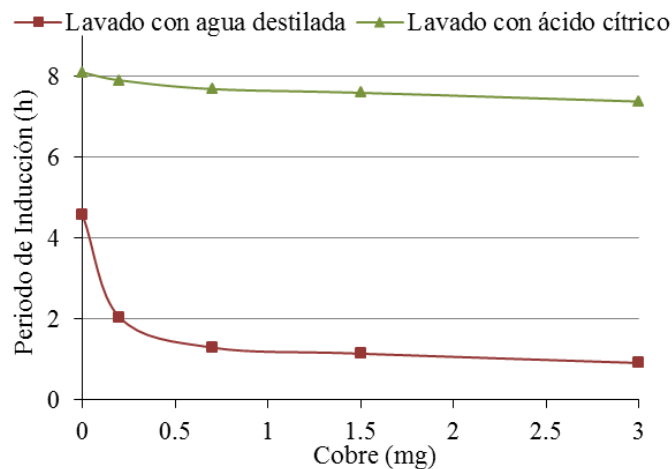


Figura 5.9. Estabilidad a la oxidación de RME (3 gramos) en presencia de cobre.

5.3. Estudio de la estabilidad a la oxidación y eficacia de aditivos comerciales después de almacenamiento

Las muestras se almacenaron durante 6 meses en botellas opacas de vidrio de 250 ml. Se evitó su exposición directa a la luz, guardándolas en un armario que no contaba con ningún sistema de calefacción o refrigeración. Una vez pasados los 6 meses, se volvió a medir el periodo de inducción de las muestras. Para este estudio sólo se compararon las muestras que no contenían aditivo y las que contenían una concentración de 1000 ppm.

5.3.1. Estabilidad a la oxidación de las muestras sin aditivo tras almacenamiento prolongado

El deterioro de las muestras lavadas con agua destilada y en ausencia de aditivos puede observarse en la figura 5.10, donde están representados los valores del periodo de inducción y sobre cada barra, el porcentaje de descenso en el periodo de inducción tras los 6 meses de almacenamiento. En términos relativos (disminución del periodo de inducción respecto del medido antes del almacenamiento) la degradación de las muestras siguió el orden: SBME > RME > HOSME > PME. Este orden coincide con el grado de insaturación de las muestras (Serrano et al., 2013).

De los análisis de las muestras que habían sido lavadas con ácido cítrico, no se extrae el mismo patrón de deterioro. La disminución relativa del periodo de inducción es menor que en el caso de las muestras lavadas con agua destilada, excepto en el caso del PME; el periodo de inducción de la muestra lavada con cítrico disminuyó en un 36%, frente a un 16% en el caso de la muestra que había sido lavada con agua destilada.

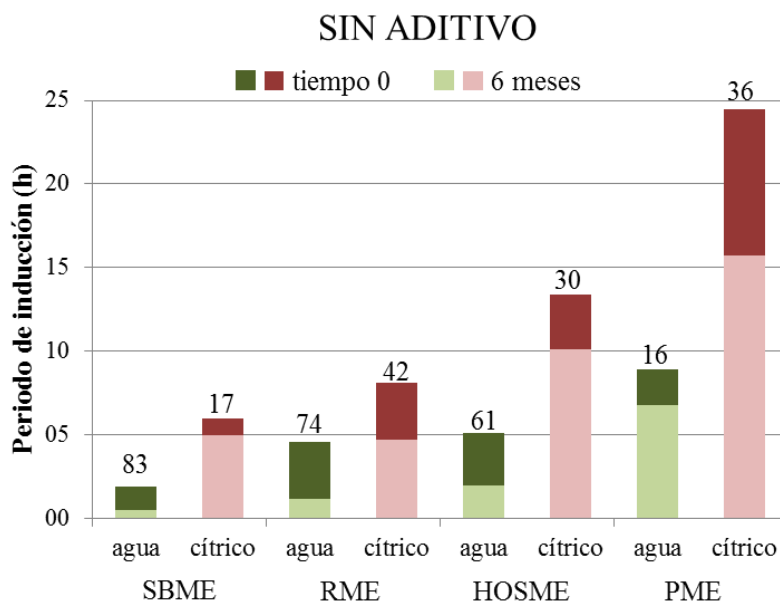


Figura 5.10. Estabilidad a la oxidación del biodiesel antes y después de 6 meses de almacenamiento.

5.3.2. Estabilidad a la oxidación de las muestras con aditivo tras almacenamiento prolongado

La mayoría de las muestras lavadas con agua destilada y a las que les había sido añadido algún aditivo mostraron menor reducción relativa de la estabilidad que las muestras sin aditivo. Los resultados se muestran en la figura 5.11. No ocurre así con las muestras de PME que contenían los aditivos 1, 2 y 3. Aunque los periodos de inducción medidos después del almacenamiento resultaron mayores que en el caso de la muestra sin aditivo, en referencia al periodo de inducción inicial, la disminución de la estabilidad es mayor.

5. Estudio de la estabilidad a la oxidación del biodiesel

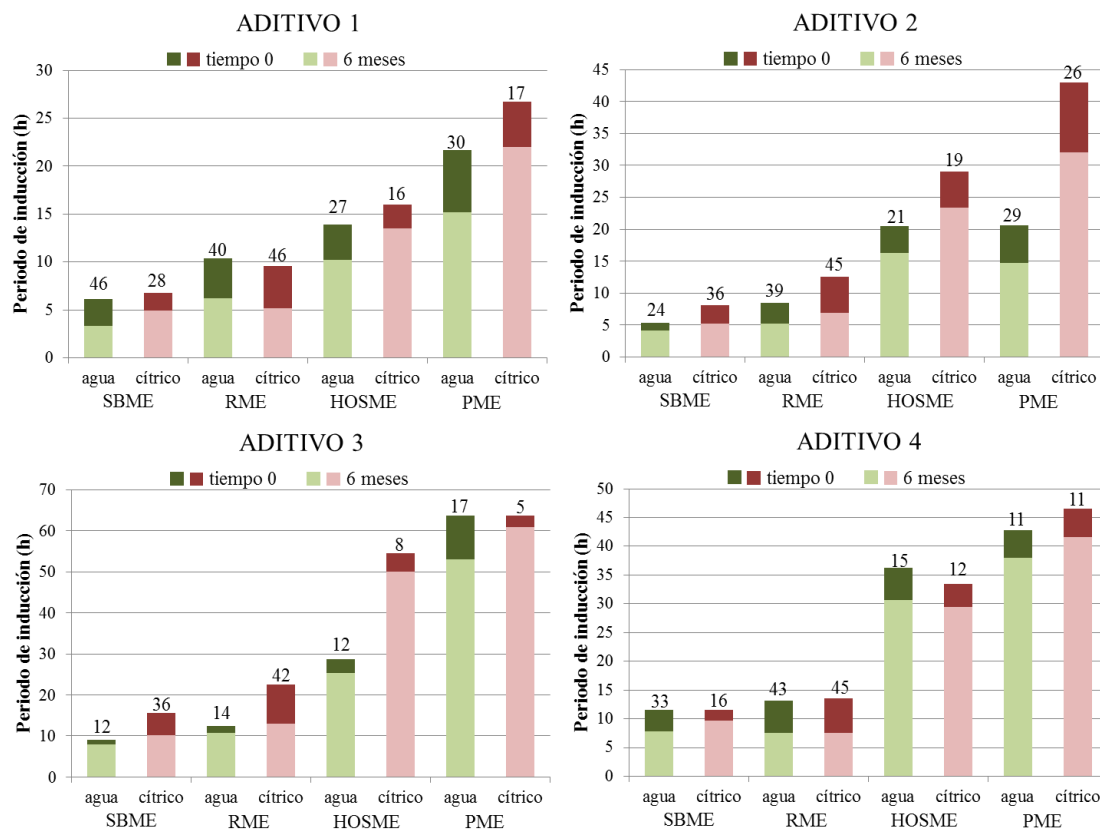


Figura 5.11. Estabilidad a la oxidación del biodiesel antes y después de 6 meses de almacenamiento con aditivo (1000 ppm).

El aditivo 3 (galato de propilo) es el que resultó más efectivo para retrasar la degradación de las muestras de SBME, HOSME y RME durante el almacenamiento. Los aditivos 1 y 2 (fenol y mezcla fenol/amina, respectivamente) mostraron la menor capacidad antioxidante a largo plazo.

Al observar los resultados obtenidos en las muestras que contenían aditivo y que habían sido purificadas con ácido cítrico, no se pudieron extraer conclusiones claras. En las muestras de HOSME y PME, la degradación relativa fue menor que en las muestras lavadas con agua. En las muestras de RME esta degradación resultó mayor independientemente del aditivo empleado, y en las muestras de SME con aditivos 2 y 3 la oxidación relativa fue mayor en el caso del lavado con cítrico.

No se encontró un patrón claro comparando las muestras según la materia prima de partida o el agente de lavado. Es posible que la acción antioxidante del ácido cítrico no tenga un efecto prolongado en el tiempo y desaparezca al poco tiempo de almacenamiento por procesos

de degradación de tal manera que sólo los antioxidantes sintéticos añadidos sean los responsables de la protección del biodiesel. Por este motivo las tasas de oxidación relativas (expresadas como porcentaje de degradación) no resultaron muy diferentes cuando se compararon los periodos de inducción de muestras purificadas con agua destilada y muestras purificadas con disolución de ácido cítrico.

5.4. Referencias

- Atadashi I.M., Aroua M.K., Abdul A.R., Sulaiman N.M.N. (2011). "Refining technologies for the production of crude biodiesel" *Appl Energ* 88: 4239-4251.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. (1995). "Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity" *LWT- Food Sci Technol* 28: 25-30.
- Berger J.M., Rana R.J., Javeed H., Javeed I., Schulien S.L. (2008). "Radical quenching of 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl: A spectrometric determination of antioxidant behaviour" *J Chem Educ* 85: 408-410.
- Canoir L., Rodríguez-Gamero M., Querol E., Alcántara R., Lapuerta M., Oliva F. (2008). "Biodiesel from low-grade animal fat: production process assessment and biodiesel properties characterization" *Ind Eng Chem Res* 47: 7997–8004.
- Chang C., Chen J. (2004). "Study on the protective mechanism of organic acids in human umbilical vein endothelial cells" *Acta Nutrimenta Sinica* 26(4): 280-283.
- Dunn R.O. (2005). "Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel)" *Fuel Process Technol* 86: 1071–1785.
- El-Boulifi N., Ashari S.E., Serrano M., Aracil J., Martínez M. (2014). "Solvent-free lipase-catalyzed synthesis of a novel hydroxyl-fatty acid derivative of kojic acid" *Enzym Microb Technol* 55: 128-132.
- Focke W., Van Der Westhuizen I., Glober A., Nshoane K., Reddy J., Luyt A. (2012). "The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel" *Fuel* 94: 227–33.
- Gil M.I., Tomás-Barberán A., Hess-Pierce B., Holcroft D.M., Kader A.A. (2000). "Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing" *J. Agri. Food. Chem.* 48: 4581-4589.
- Irwandi J., Che-Man Y.B., Kitts D.D., Bakar J., Jinap S. (2000). "Synergies between plant antioxidant blends in preventing peroxidation reactions in model and food oil systems" *J. Am. Chem. Oil. Soc.* 77: 945-950.
- Kayashima T., Katayama T. (2002). "Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems" *Biochimica Biophysica Acta* 1573(1): 1-3.

- Knothe G., Dunn R. (2003). "Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals" *J Am Oil Chem Soc* 80: 1021–1026.
- Liang Y., May C., Foon C., Ngan M., Hock C., Basiron Y. (2005). "The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm biodiesel" *Fuel* 85: 867–870.
- Lo Scalzo R. (2010). "Measurement of free radical scavenging activity of gallic acid and unusual antioxidants as sugars and hydroxyacids" *Electron J Environ Agricul Food Chem* 9: 1360-1371.
- Merril L., Pike O., Ogden L., Dunn M. (2008). "Oxidative stability of conventional and high oleic vegetable oils with added antioxidants" *J Am Oil Chem Soc* 85: 771–776.
- Mittelbach M., Schober S. (2003). "The Influence of antioxidants on the oxidation stability of biodiesel" *J Am Oil Chem Soc* 80: 817-823.
- Rizlner Hrasl A., Hadolin M., Knez Z., Bauman D. (2000). "Comparison of antioxidative and synergistic effects of Rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil" *Food Chem* 70: 229-233.
- Santos N., Damasceno S., de Araújo P., Marques V., Rosenhaim R., Fernandes V., Queiroz N., Santos I., Maia A., Souza A. (2011). "Caffeic Acid: an efficient antioxidant for soybean biodiesel contaminated with metals" *Energ Fuels* 25: 4190-4194.
- Sarin A., Arora R., Singh N.P., Sarin R., Malhotra R.K., Sharma M., Khan A.A. (2010). "Synergistic effect of metal deactivator and antioxidant on oxidation stability of metal contaminated *Jatropha* biodiesel" *Energ* 35: 2333–2337.
- Sarin A., Arora R., Singh N.P., Sarin S., Malhotra R.K. (2010). "Oxidation Stability of Palm Methyl Ester: Effect of Metal Contaminants and Antioxidants" *Energ Fuels* 24: 2652-2656.
- Sarin A., Singh N.P., Sarin R., Malhotra R.K. (2010). « Natural and synthetic antioxidants: influence on the oxidative stability of biodiesel synthesized from non-edible oils" *Energy* 35: 4645–4648.
- Serrano M., Bouaid A., Martínez M., Aracil J. (2013). "Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: Influence of commercial additives and purification step" *Fuel* 113: 50-58.

- Serrano M., Martínez M., Aracil J. (2013). “Long term storage stability of biodiesel: Influence of feedstock, commercial additives and purification step” *Fuel Proc Technol* 16: 135-141.
- Siddharth J., Sharma M.P. (2012). “Oxidation, Thermal, and Storage Stability Studies of *Jatropha Curcas* Biodiesel” *ISRN Renew Energ* ID 861293.
- Tang H., Wang A., Salley S., Simon Ng K.Y. (2008). “The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel” *J Am Oil Chem Soc* 85: 373-382.
- Van Gerpen J. (2005). “Biodiesel processing and production” *Fuel Proc Technol* 86: 1097-1107.
- Weng X.C., Huang Y. (2014) “Relationship structure-antioxidant activity of hindered phenolic compounds” *Grasas Aceites* 65: e051.

VI. INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN DE LA MATERIA PRIMA EN LAS PROPIEDADES COMO COMBUSTIBLE

6.1. Estabilidad a la oxidación.....	164
6.2. Propiedades en frío.....	168
6.3. Optimización de la estabilidad a la oxidación y las propiedades en frío.....	173
6.4. Referencias.....	176

NOMENCLATURA EMPLEADA EN ESTE CAPÍTULO

Tal y como se hizo en el capítulo anterior, se conservará la nomenclatura empleada en los artículos que se muestra a continuación:

BAPE: posiciones bisalílicas equivalentes (del inglés: bys-allylic position equivalent).

BME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de babaçu (del inglés babaçu methyl ester).

CFPP: punto de obstrucción de filtros en frío, medido según el método descrito en la sección 4.2.9.2 (del inglés Cold Filter Plugging Point).

COME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de coco (del inglés coconut methyl ester).

HOSME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de girasol, con alto contenido en ácido oleico (del inglés high oleic sunflower methyl ester).

IP: periodo de inducción medido acorde al método Rancimat decrito en la sección 4.2.10.2 (del inglés Induction Period).

PME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de palma (del inglés palm methyl ester).

R²_{adj}: coeficiente de determinación ajustado.

RME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de colza (del inglés rapeseed methyl ester).

RMSE: error cuadrático medio (del inglés root mean squared error).

SBME: ésteres metílicos obtenidos a partir de aceite de soja (del inglés soybean methyl ester).

A medida que se incorporan nuevas materias primas en la producción de biodiesel es necesario actualizar el conocimiento del impacto que tendrá en las propiedades como combustible. Hasta la fecha, las materias primas más empleadas provenían de aceites vegetales cuyos ácidos grasos mayoritarios tenían una longitud comprendida entre 16 y 22 átomos de carbono, de los cuales los insaturados eran principalmente mono y diinsaturados (aunque con presencia de triinsaturados, en bajas proporciones). Existe numerosa bibliografía que correlaciona estas materias primas con algunas propiedades dependientes de las mismas, como la estabilidad a la oxidación, cristalización a baja temperatura, número de cetano, viscosidad, etc. En el presente estudio, se incluyeron además de aceites convencionales (soja, colza, girasol y palma) dos aceites vegetales cuya composición difiere principalmente en la presencia de ácidos grasos saturados de menos de 16 átomos de carbono. Se trata de aceite de coco y babaçu, que tienen concentraciones no despreciables de ácido láurico (C12) y mirístico (C14), así como de otros ácidos grasos saturados de menor número de carbono. En la Tabla 6.1 se muestra la composición de los aceites empleados.

6. Influencia de la composición de la materia prima en las propiedades como combustible

Ácido graso (% m/m)		Aceite vegetal					
		Soja	Colza	Girasol Alto Oleico	Palma	Babaçu	Coco
Butírico	C4:0					6.7	
Caproico	C6:0					0.4	0.6
Caprílico	C8:0					5.3	8.1
Caproleico	C10:0					4.8	6
Laúrico	C12:0				0.1	40	47.2
Mirístico	C14:0	0.3	0.1		2.5	14.9	19.2
Palmítico	C16:0	10.9	5.1	3.5	40.8	8.6	8.9
Palmitoleico	C16:1			0.1			
Esteárico	C18:0	3.2	2.1	3.1	3.6	3.4	2.8
Oleico	C18:1n9	24	57.9	82.7	45.2	13.6	5.9
Linoleico	C18:2n6	54.5	24.7	9	7.9	2.1	1.2
Linolénico	C18:3n3	6.8	7.9	0.1			
Araquídico	C20:0	0.1	0.2	0.3		0.1	0.1
Gadoleico	C20:1		1	0.3		0.1	
Behénico	C22:0		0	0.8			
Erúxico	C22:1n9		0.2				
Lignocérico	C24:0			0.2			
Total saturados		14.5	7.5	7.9	47.0	84.2	92.9
Saturados C4-C14		0.3	0.1	0.0	2.6	72.1	81.1
Saturados C16-C24		14.2	7.4	7.9	44.4	12.1	11.8
Total insaturados		85.3	91.7	92.2	53.1	15.8	7.1
Monoinsaturados		24.0	59.1	83.1	45.2	13.7	5.9
Poliinsaturados (2,3)		61.3	32.6	9.1	7.9	2.1	1.2
Propiedades		Soja	Colza	Girasol			Coco
				Alto Oleico	Palma	Babaçu	
Acidez (mg KOH/g)		0.18	0.17	0.24	0.17	0.3	0.24
Índice de Yodo (gI ₂ /100g)		134	104	91	56	20	13
Peróxidos (meq/kg)		1.1	2.98	2.5	4.1	3.1	1.62
Viscosidad (mm ² /s)		30.7	37.3	40.6	109.5	30.3	
Humedad (mg/kg)		0.01	0.01	0.02	0.01		

Tabla 6.1. Propiedades de los aceites vegetales.

Cada aceite vegetal fue transesterificado por separado mediante el procedimiento descrito en la sección 3.1.1. *Obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales*. El lavado se realizó con disolución 0.1 M de ácido cítrico. Se obtuvieron así 6 muestras de biodiesel cuyas propiedades aparecen en la tabla 6.2. Se comprobó previamente que las propiedades y composición eran idénticas si se obtenía biodiesel a partir de una mezcla de materias primas o si se producía biodiesel a partir de cada uno de los aceites y posteriormente se mezclaban los

6. Influencia de la composición de la materia prima en las propiedades como combustible

ésteres resultantes. Una vez obtenido el biodiesel de cada uno de los aceites vegetales, fueron mezclados en diferentes proporciones de manera que se obtuvieron 116 mezclas de diferentes composiciones de ésteres metílicos, cuyas propiedades fueron analizadas.

Propiedad	Límite EN14214		SBME	RME	HOSME	PME	BME	COME
	Min	Max						
FAME (% m/m)	96.5		>97	>97	>97	>97	>97	>97
Acidez (mgKOH/g)		0.5	0.34	0.18	0.21	0.2	0.26	0.43
Humedad (mg/kg)		500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
Índice de Iodo (gI ₂ /100g)		120	130	114	87	51	18	10
Peróxidos (meq/kg)			4.91	5.09	3.4	2.4	2.9	1.1
Periodo de Inducción (h)	8		6	8.1	14.4	24.5	45	54.5
Número de cetano	51		48	55	60	61	62	65
CFPP (°C)			-4	-14	-6	13	-4	-7
Viscosidad (mm ² /s)	3.5	5	4.8	4.6	4.9	4.9	3.1	2.8

Tabla 6.2. Propiedades de los ésteres metílicos.

6.1. Estabilidad a la oxidación

Los resultados de medir la estabilidad a la oxidación de las diferentes mezclas se representan en la figura 6.1. Los datos de todas las muestras pueden consultarse en el Anexo V, donde se incluye el artículo publicado en base a esta investigación (Serrano et al., 2014). Se trata de un diagrama ternario donde cada eje representa la composición de ésteres metílicos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Las mezclas con mayor contenido en ésteres poliinsaturados presentan los valores más bajos de estabilidad. A medida que disminuye esta fracción, el periodo de inducción aumenta, especialmente si aumenta la fracción de compuestos saturados.

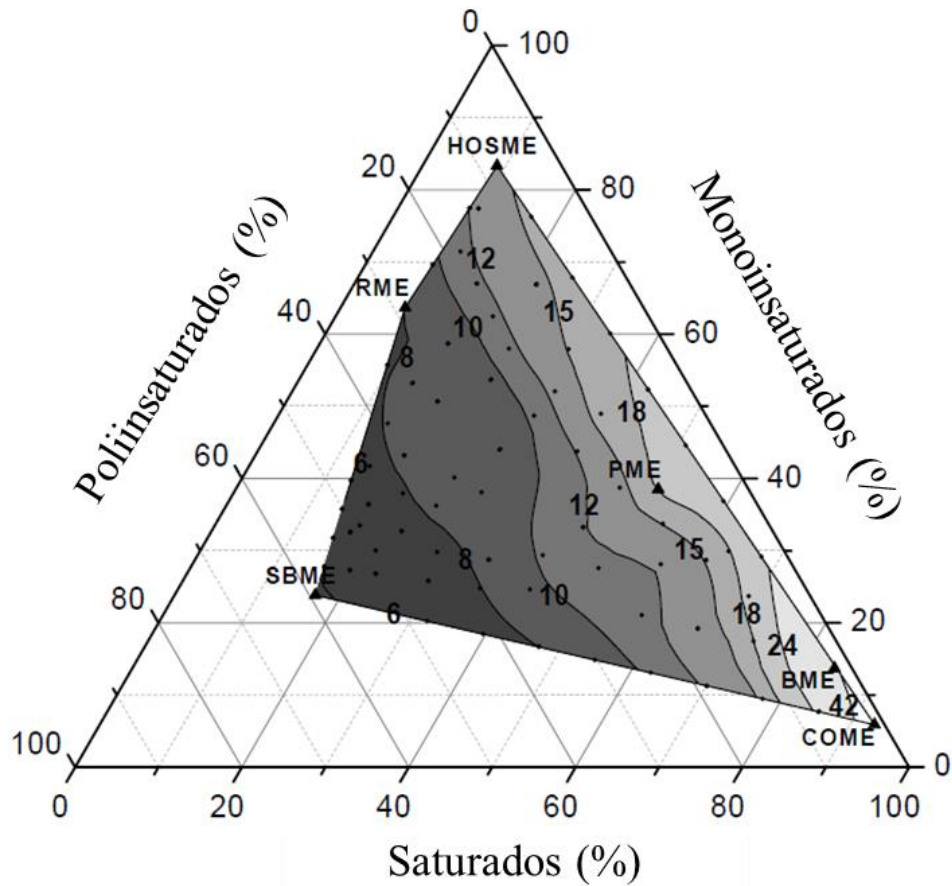


Figura 6.1. Diagrama ternario: Periodo de inducción (h).

Si se correlacionan directamente los valores del periodo de inducción con las cantidades de saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, puede obtenerse una curva que se ajusta mediante una ecuación potencial al contenido de poliinsaturados (figura 6.2):

$$IP = 55 \cdot [\text{Poliinsaturados}]^{-0.53}; R^2_{\text{adj}} = 0.91$$

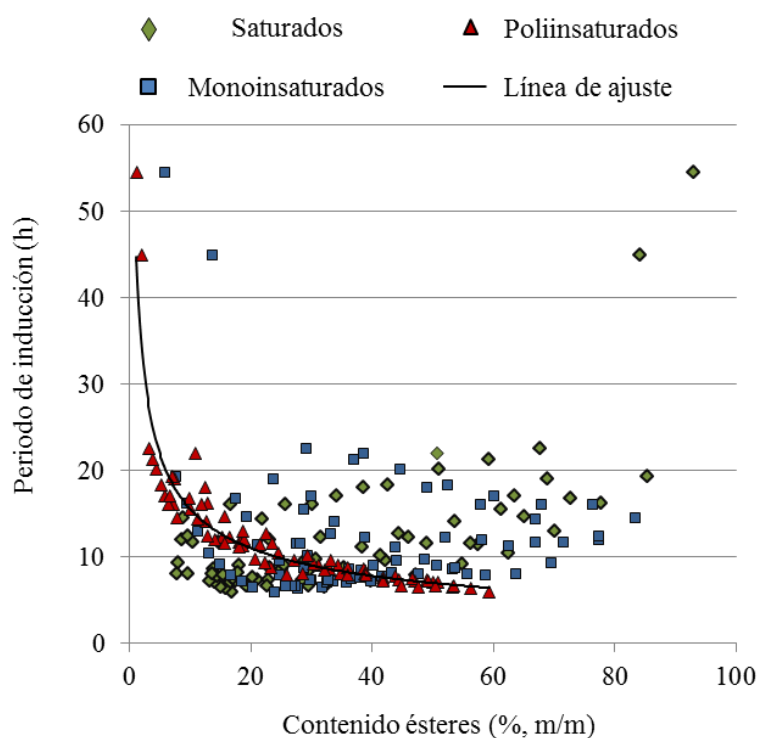


Figura 6.2. Periodo de Inducción frente a ésteres saturados, monoinsaturados y poliinsaturados.

Los resultados obtenidos sólo son válidos en el intervalo de concentraciones de ésteres metílicos estudiados: $7.2 \leq [\text{Saturados}] \leq 92.9$; $5.9 \leq [\text{Monoinsaturados}] \leq 83.1$, y $1.2 \leq [\text{Poliinsaturados}] \leq 61.3$, siendo los únicos ésteres poliinsaturados el linoleato y linolenato de metilo. Puesto que la tasa relativa de auto-oxidación del linolenato es más del doble que la del linoleato, se producirían cambios si aumenta o disminuye la proporción de alguno de ellos.

Existen muy pocas correlaciones para predecir el periodo de inducción a partir del perfil lipídico de los ésteres metílicos. El denominado BAPE, que podría traducirse como el equivalente de posiciones bisalílicas (bys-allylic position equivalent), tiene en cuenta el número de posiciones bisalílicas, ya que son mucho más reactivas que las posiciones alílicas. Se determina a partir de las concentraciones (% m/m) de ácido linoleico (C18:2, con una posición bisalílica) y linolénico (C18:3, con dos posiciones bisalílicas):

$$\text{BAPE} = [\text{C18:2}] + 2 \cdot [\text{C18:3}]$$

Knothe y Dunn (Knothe y Dunn, 2003) obtuvieron un elevado coeficiente de correlación (0.983) cuando relacionaron este parámetro con la estabilidad a la oxidación de manera lineal. Sarin et al., 2010, también obtuvieron un buen ajuste de los datos experimentales del periodo

de inducción cuando se relacionaban linealmente con el porcentaje de ésteres metílicos insaturados. En el caso de este estudio, los datos experimentales ajustaron a una ecuación potencial y no a una ecuación lineal. Las diferencias con los estudios referidos pueden deberse a las composiciones que fueron objeto de estudio. En el caso de Sarin et al. emplearon materias primas que no contenían ácido linolénico (C18:3) y el límite superior para el ácido linoléico (C18:2) fue de 34.4% (Sarin et al., 2010). Las materias primas empleadas en la presente investigación contenían hasta un 54.5 % de ácido linoléico y un 7.9 % de ácido linolénico. Dada su importancia en los procesos de oxidación, es lógico que la relación del periodo de inducción con la composición de las mezclas varíe en función tanto de los ácidos grasos que se consideran y de su presencia en los aceites. En el caso del estudio de Knothe y Dunn, el parámetro BAPE sí podría relacionarse de manera lineal con los datos experimentales obtenidos en un rango limitado (ver Figura 6.3). Su rango de estudio cubría mezclas de ésteres metílicos con BAPEs entre 10 y 75. Es precisamente para valores de BAPE próximos o inferiores a 10 cuando los datos experimentales comienzan a ajustarse a una ecuación potencial.

Finalmente Park et al. relacionaron la estabilidad a la oxidación con el contenido de linoleico y linolénico de la materia prima, de tal manera que obtuvieron una ecuación de ajuste potencial, pero de coeficiente -1, es decir, la estabilidad variaba linealmente con la inversa del contenido total de ésteres poliinsaturados (Park et al., 2008).

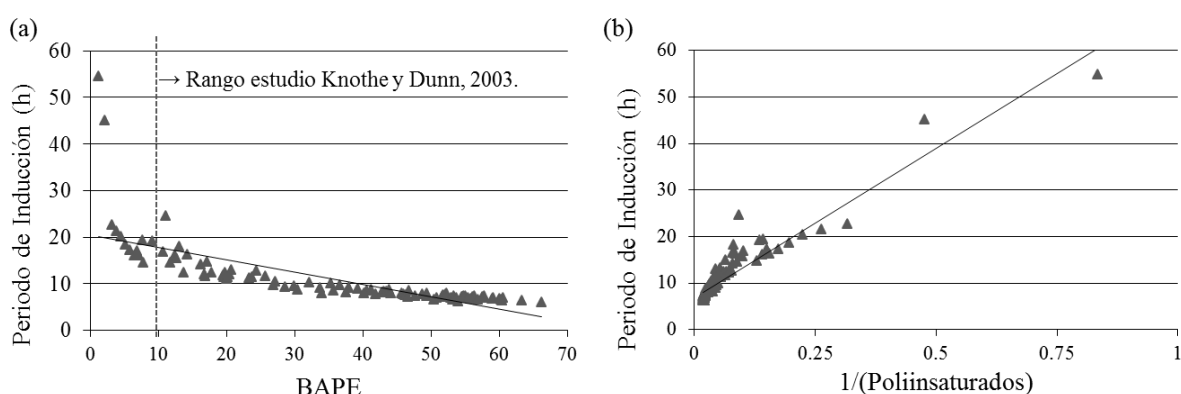


Figura 6.3. Representación de los datos experimentales acorde a: (a) BAPE (Knothe y Dunn, 2003) y (b) Inversa del contenido en ésteres poliinsaturados (Park et al., 2008).

6. Influencia de la composición de la materia prima en las propiedades como combustible

En la tabla 6.3 se muestran las ecuaciones obtenidas al relacionar el periodo de inducción con el BAPE y la inversa del contenido de insaturados. A su vez, se muestra la ecuación obtenida en este estudio, que proporcionó mejor coeficiente de determinación ajustado (R^2_{adj}) y menor error cuadrático medio (RMSE).

Referencia	(Knothe y Dunn, 2003)	(Park et al., 2008)	Este estudio
Ecuación	$IP = 20 - 0.3 \cdot BAPE$	$IP = 7 + \frac{64}{[Poliinsat]}$	$IP = 55 \cdot [Poliinsat]^{-0.5}$
R^2_{adj}	0.53	0.89	0.91
RMSE	4.61	2.14	1.98

Tabla 6.3. Comparación con otros modelos de predicción de la estabilidad a la oxidación.

6.2. Propiedades en frío

Como puede verse en la tabla 6.2, las muestras de COME y BME presentaron valores de CFPP mucho menores que en el caso de PME, aunque el aceite de coco y babaçu estén compuestos casi mayoritariamente por ácidos grasos saturados. La diferencia radica en la longitud de la cadena hidrocarbonada: mientras en el caso del aceite de palma el principal ácido saturado es el palmítico, con 16 átomos de carbono, los aceites de coco y babaçu cuentan con ácido láurico y mirístico, de 12 y 14 átomos de carbono, respectivamente. Como puede verse en la tabla 1.6, la temperatura de congelación de los ácidos grasos y ésteres metílicos aumenta con la longitud de la cadena hidrocarbonada.

La figura 6.4 representa otro diagrama ternario. Sin embargo, esta vez los ejes se corresponden con los ésteres metílicos saturados de menos de 16 átomos de carbono, los ésteres saturados de 16 o más átomos de carbono y los ésteres insaturados, tanto monoinsaturados como poliinsaturados. Del triángulo representado, las muestras que se encuentran en la esquina inferior izquierda son las que tienen mayor contenido en ésteres insaturados, y por tanto mostraron los valores más bajos del CFPP. A medida que aumenta su contenido en ésteres saturados, sea cual sea la longitud de la cadena, este valor aumenta, pero lo hace en mucho menor medida si se trata de ésteres de cadena corta. Mostrando como ejemplo las muestras que tienen un 50 % de ésteres insaturados se observó que si la totalidad de los ésteres saturados eran de cadena larga, el valor del CFPP es de 12°C, mientras que si la mayoría de los ésteres saturados eran de cadena corta, se alcanzaban valores de -10°C.

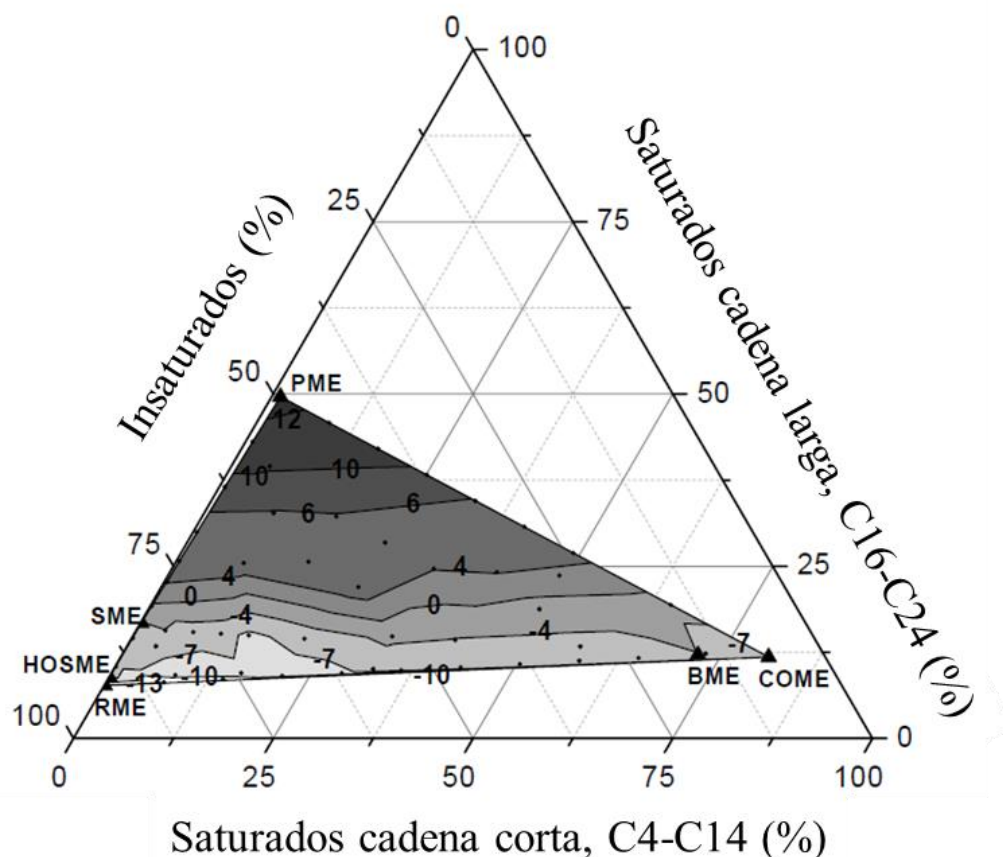


Figura 6.4. Diagrama ternario: Punto de obstrucción de filtros en frío (°C).

La introducción de ácidos grasos saturados de cadena corta puede ser una manera para mejorar las propiedades en frío sin comprometer la estabilidad a la oxidación del biodiesel.

Dentro de los intervalos de diferentes ésteres metílicos investigados, la longitud de la cadena hidrocarbonada de los compuestos saturados parece ser el factor con más peso en las propiedades en frío. En la figura 6.5 aparece la gráfica donde se representa la cantidad de ésteres metílicos saturados de cadena corta y larga, y los ésteres insaturados frente al valor del CFPP. Este valor puede relacionarse directamente con el contenido en ésteres saturados de cadena larga mediante una ecuación potencial:

$$\text{CFPP} = -27 + 5.9 \cdot [\text{Saturados C16-C24}]^{0.5}; R^2_{\text{adj}} = 0.94$$

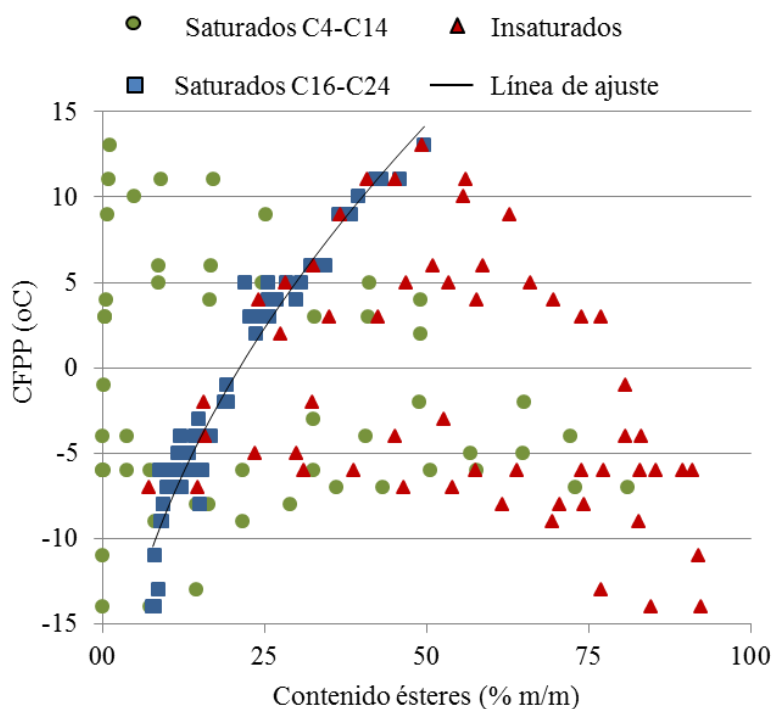


Figura 6.5. CFPP frente a ésteres saturados de cadena corta (C4-C14), ésteres saturados de cadena larga (C16-C24) e insaturados.

Igualmente a lo explicado en el caso de la estabilidad a la oxidación, es una estrategia muy común la obtención de parámetros y ecuaciones para poder estimar las propiedades en frío del biodiesel a partir de su composición (Jeong et al., 2008; Ramos et al., 2009; Giakoumis 2013). Sin embargo, las muestras de biodiesel empleadas en estos estudios no contaban con ésteres saturados de menos de 16 átomos de carbono

Martínez et al. (2014) relacionaron el valor del CFPP con el contenido en linolenato de metilo o el grado de insaturación. Las correlaciones de las propiedades en frío con el grado de insaturación no son capaces de explicar las desviaciones de algunos puntos experimentales, y son incapaces de predecir el comportamiento de ésteres metílicos que contienen un rango amplio de diferentes ácidos grasos saturados, ya que el peso de la longitud de la cadena hidrocarbonada no puede despreciarse en este caso.

Jeong et al. ajustaron los valores experimentales del CFPP con su contenido en ésteres metílicos saturados obteniendo una ecuación lineal (Jeong et al., 2008). Esa linealidad se mantiene si se emplea la concentración de palmitato de metilo, ya que es el éster mayoritario dentro de los saturados.

Como en el resto de los estudios consultados, las materias primas empleadas no contenían ácidos grasos saturados de cadena corta, de manera que cuando se realizó la representación de los datos experimentales obtenidos en este estudio con el contenido total en ácidos grasos saturados totales, no se pudo observar ninguna tendencia, lo que puede comprobarse observando la figura 6.6. En ella se muestran las diferentes gráficas obtenidas al representar los datos experimentales frente a las variables propuestas por los autores citados previamente.

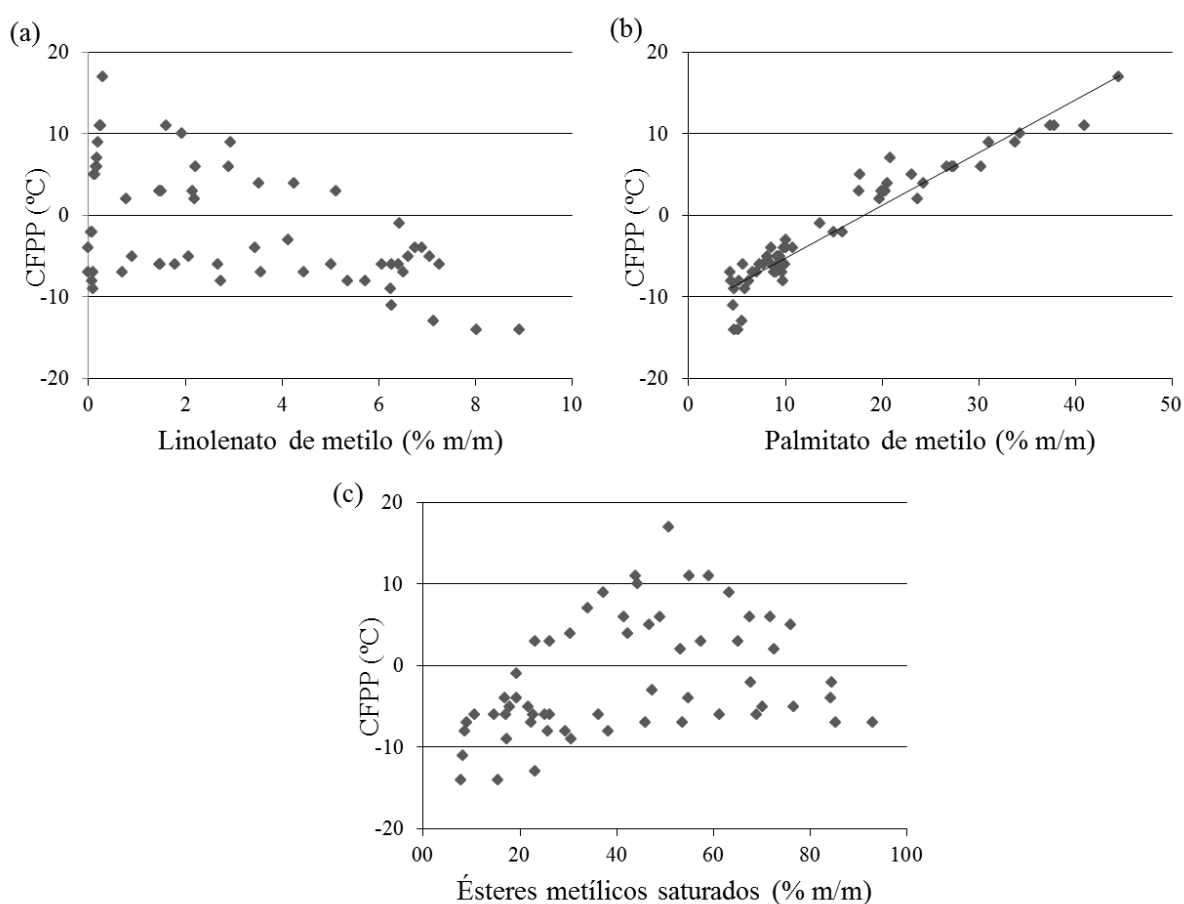


Figura 6.6. Representación de los datos experimentales acorde a: (a) Linoleato de metilo (%) (Martínez et al., 2014), (b) Palmitato de metilo (%) (Jeong et al., 2008) y (c) contenido total de ésteres saturados (Jeong et al., 2008).

Como se muestra en la Tabla 6.4, el ajuste lineal de los datos experimentales de CFPP con el contenido en palmitato de metilo de cada muestra, dio lugar a un coeficiente de regresión elevado, pero algo menor si se compara con el ajuste potencial propuesto en este estudio.

6. Influencia de la composición de la materia prima en las propiedades como combustible

Referencia	(Jeong et al., 2008)	Este estudio
Ecuación	$CFPP = -12 + 0.7 \cdot [C16:0]$	$CFPP = -27 + 5.9 \cdot [Saturados C16 - 24]^{0.5}$
R^2_{adj}	0.92	0.94
RMSE	2.08	1.77

Tabla 6.4. Comparación con otros modelos de predicción del CFPP.

Resulta de gran interés aumentar el rango de estudio referido a la concentración de palmitato de metilo para poder analizar mejor la evolución del CFPP a mayores concentraciones de éste. Sin embargo, no existen datos de CFPP de ésteres metílicos o ácidos grasos puros. El parámetro CFPP no se emplea para compuestos puros sino para mezclas y depende de la concentración de cada componente: se producirá primero la cristalización de los componentes con mayores puntos de fusión, pero dependerá a su vez de la concentración en la que se encuentre ya que el resto de componentes (aun en estado líquido) actúan como solventes.

Como aproximación, se empleará por tanto el punto de fusión del palmitato de metilo, que es de 30°C. Al tratarse de un compuesto puro, puede considerarse que el valor del CFPP se encontraría próximo al del punto de fusión. Con este valor puede extrapolarse la gráfica de la figura 6.6.b, para poder estimar la forma de la curva de ajuste. De la figura 6.7 puede observarse que, considerando el valor del punto de fusión del palmitato de metilo cercano al CFPP, la forma de la curva de ajuste se ajustaría precisamente a una ecuación potencial y no una lineal.

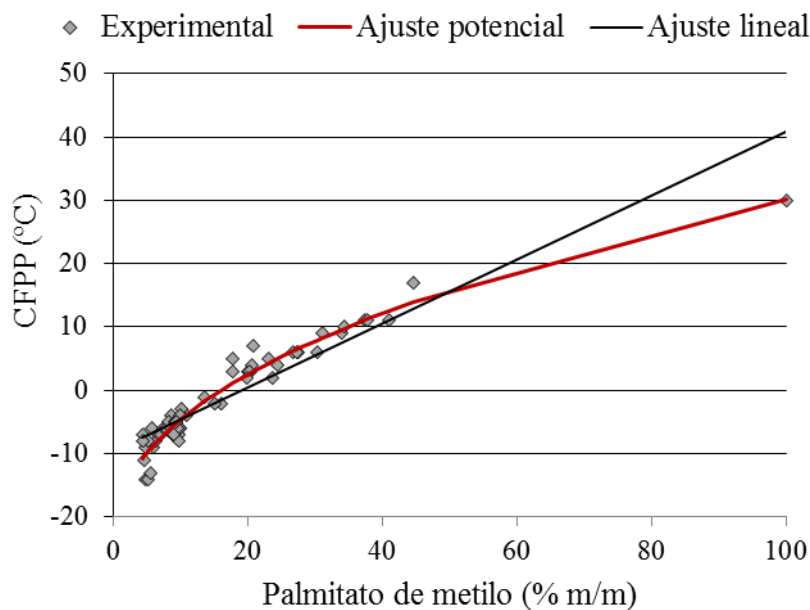


Figura 6.7. Extrapolación de la gráfica añadiendo el valor del punto de fusión de palmitato de metilo puro (100%, 30°C).

Puesto que el palmitato de metilo es el éster mayoritario entre los saturados de cadena larga, esta tendencia se repetiría en el caso de relacionar el CFPP con la concentración total de ésteres saturados de cadena larga.

6.3. Optimización de la estabilidad a la oxidación y las propiedades en frío.

El aumento en la proporción de ésteres metílicos saturados resultó en una mayor estabilidad a la oxidación medida como el tiempo de inducción. La mayoría de estudios cuyo objetivo es la optimización de propiedades mediante el uso de mezclas de ésteres metílicos procedentes de diferentes aceites vegetales, se centran en emplear materias primas cuyos ácidos grasos saturados están exclusivamente compuestos por ácidos de más de 14 átomos de carbono, siendo el palmítico (C16:0) el mayoritario (Knothe y Dunn, 2003; Park et al., 2008; Jeong et al., 2008). De esta manera, al introducir una mayor cantidad de ésteres saturados, se consigue una mayor estabilidad a la oxidación pero también un aumento del punto de fusión, y viceversa. Si este aumento se produce principalmente por ésteres saturados de cadena corta,

6. Influencia de la composición de la materia prima en las propiedades como combustible

como son el laureato o miristato de metilo, procedentes del ácido láurico (C12:0) y ácido mirístico (C14:0), respectivamente, las propiedades en frío pueden verse comprometidas en menor grado.

La figura 6.8 muestra dos gráficas donde se evalúan la estabilidad a la oxidación y el CFPP de mezclas binarias RME-PME y RME-COME. Como puede verse, la adición de PME provoca un aumento en la estabilidad a la oxidación (expresada como periodo de inducción) en detrimento de aumentar de manera significativa el CFPP de la mezcla. Sin embargo, al emplear COME en su lugar, la estabilidad a la oxidación aumenta y aunque también aumenta el CFPP de la mezcla, lo hace de una manera mucho menos severa.

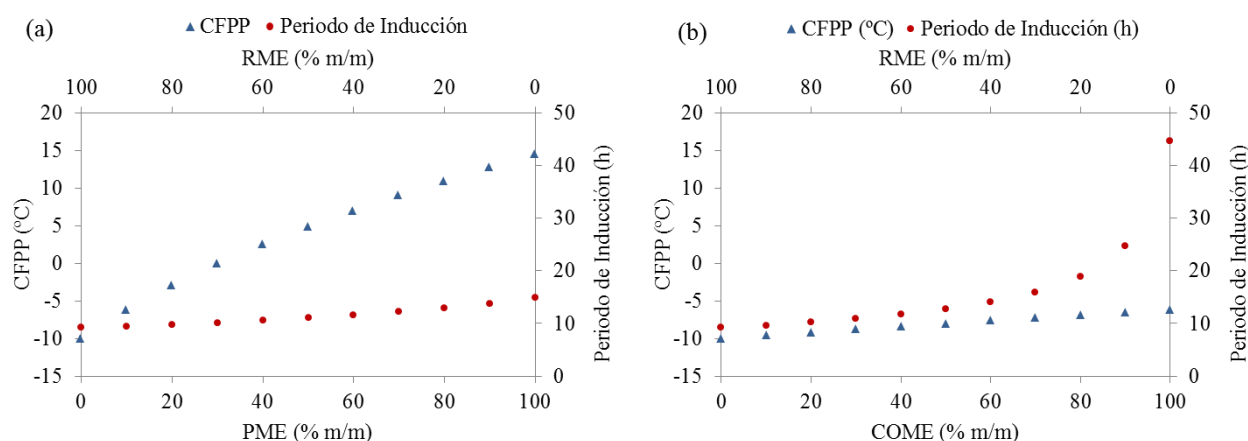


Figura 6.8. (a) Periodo de Inducción y CFPP de mezclas binarias RME-PME. (b) Periodo de Inducción y CFPP de mezclas binarias RME-COME.

Queda fuera del alcance de esta tesis el análisis de la viabilidad de uso de las materias primas atendiendo a su disponibilidad. Factores geográficos y económicos podrían hacer poco viable el uso de mezclas de materias primas que conduzcan a mejorar las propiedades del biodiesel resultante.

Debe tenerse en cuenta a su vez la influencia de las propiedades del biodiesel en la mezcla resultante biodiesel/diésel. El porcentaje de mezcla permitido, aunque varía en función de la legislación de cada país, está limitado como máximo a un 10% de ésteres metílicos en gasóleo. El perfil lipídico del aceite de partida no afecta de manera significativa al valor del CFPP cuando se mezcla con diesel en proporciones igual o inferior al 5%, exceptuando el caso del biodiesel de palma, por su elevado contenido en ácido palmítico, según un estudio de

Moser, 2014. Incluso en mezclas que contenían un 20% de biodiesel de camelina, el mismo autor encontró un aumento del CFPP desde -17 hasta -14°C (Moser, 2010). La estabilidad a la oxidación del diésel se ve algo más influenciada por la presencia de biodiesel aun en bajas proporciones (Chakraborty y Baruah, 2012; Beck et al., 2014; Berrios et al., 2012). Aunque sólo pudo verse la influencia del perfil lipídico cuando se empleaban materias primas muy diferentes para su comparación (Karavalakis y Stournas, 2010).

6.4. Referencias

- Beck Á., Pölczmann G., Eller Z., Hancsók J. (2014). “Investigation of the effect of detergent-dispersant additives on the oxidation stability of biodiesel, diesel fuel and their blends” *Biomass Bioenerg* 66:328-336.
- Berrios M., Martín M. A., Chica A.F., Martín A. (2012). “Storage effect in the quality of different methyl esters and blends with diesel” *Fuel* 91: 119-125.
- Chakraborty M., Baruah D.C. (2012). “Investigation of oxidation stability of Terminalia bellerica biodiesel and its blends with petrodiesel” *Fuel Proces Technol* 98: 51-58.
- Giakoumis E.G. (2013). “A statistical investigation of biodiesel physical and chemical properties, and their correlation with the degree of unsaturation” *Renew Energ* 50: 585-878.
- Jeong G.T., Park J., Park S., Park D. (2008). “Estimating and Improving Cold Filter Plugging Points by Blending Biodiesels with Different Fatty Acid Contents” *Biotechnol Bioproc E* 13: 505-510.
- Karavalakis G., Stournas S. (2010). “Impact of antioxidant additives on the oxidation stability of diesel/biodiesel blends” *Energy Fuels* 24: 3682-3686.
- Knothe G., Dunn R. (2003). “Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals” *J Am Oil Chem Soc* 80: 1021–1026.
- Martínez G., Sánchez N., Encinar J.M., González J.F. (2014). “Fuel properties of biodiesel from vegetable oils and oil mixtures. Influence of methyl esters distribution” *Biomass Bioenerg* 63: 22-32.
- Moser B. R. (2014). “Impact of fatty ester composition on low temperatura properties of biodiesel-petroleum diesel blends” *Fuel* 115: 500-506.
- Moser B.R., Vaughn S. F. (2010). “Evaluation of alkyl esters from *Camelina sativa* oil as biodiesel and as blend components in ultra-low sulfur diesel fuel” *Bioresource Technol* 10: 646-653.

- Park J., Kim D.K., Lee J., Park S., Kim Y., Lee J. (2008). "Blending effects of biodiesel on oxidation stability and low temperature flow properties" *Bioresource Technol* 99: 1196-1203.
- Ramos M.J, Fernández C.M., Casas A., Rodríguez L., Pérez A. (2009). "Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties" *Bioresour Tech* 100: 261-268.
- Sarin A., Arora R., Singh N.P., Sarin R., Malhotra R.K. (2010). "Blends of biodiesl synthetized from non-edible and edible oils: Influence on the OS (oxidation stability)" *Energy* 35: 3449-3453.
- Serrano M., Oliveros R., Sánchez M., Moraschini A., Martínez M., Aracil J. (2014). "Influence of blending vegetable oil methyl esters on biodiesel fuel properties: Oxidative stability and cold flow properties" *Energy* 65: 109-115.

VII. OBTENCIÓN DE BIODIESEL A PARTIR DE ACEITE DE SALMÓN

7.1. Optimización de la esterificación de los ácidos grasos libres del aceite de salmón....	183
7.1.1. Diseño de experimentos	183
7.1.2. Influencia de las variables de operación sobre la conversión de ácidos grasos libres.....	187
7.1.3. Superficies de respuesta	188
7.1.4. Determinación de las variables de operación óptimas	189
7.2. Estudio cinético de la esterificación de los ácidos grasos libres del aceite de salmón	190
7.2.1. Descripción del modelo cinético	191
7.2.2. Validación del modelo cinético.....	196
7.3. Propiedades de los ésteres metílicos del aceite de salmón	197
7.4. Referencias	201

NOMENCLATURA EMPLEADA EN ESTE CAPÍTULO

La nomenclatura que se emplea en este capítulo se muestra a continuación:

T: temperatura (K).

t: tiempo de reacción (min).

RM: relación molar metanol:aceite.

FFA: ácidos grasos libres, del inglés free fatty acids.

X_{FFA}: Conversión de ácidos grasos libres (porcentaje o tanto por uno, según se indique).

C_{FFA}: concentración de ácidos grasos libres (mol/l).

C_{FFA0}: concentración de ácidos grasos libres inicial (mol/l).

C_M: concentración de metanol (mol/l).

C_E: concentración de ésteres metílicos (mol/l).

C_w: concentración de agua (mol/l).

m: concentración de catalizador (kg/l).

m₀: concentración inicial de catalizador (kg/l).

k_i: constante cinética.

K_i: constante de adsorción.

k_{i∞}: factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius.

E_a_i: la energía de activación de las reacciones (cal/(K·mol)).

R: constante de los gases ideales (1.987 cal/(K·mol)).

El aceite de salmón empleado provenía de la empresa Akva-Ren SA, fábrica de procesado en Furufalten, Noruega. El proceso para extraer el aceite fue el ensilado: se trata de un método empleado para conservar los subproductos derivados del procesado de pescado. Consiste en la adición de ácidos minerales, comúnmente ácido fórmico, para estabilizar el pH en el rango 3.5-4. A este valor, las proteínas se vuelven solubles y se produce cierta hidrólisis pero sin llegar a degradar el valor nutritivo de la materia prima y se evita el desarrollo de microorganismos putrefactores. Las vísceras y partes no empleadas para la venta son molidas, homogeneizadas y mezcladas con el ácido. El aceite liberado de los tejidos sube a la superficie del tanque donde se realiza la mezcla.

Una vez transcurrido el tiempo suficiente, el producto se introduce en una centrífuga trifásica de donde se obtiene una fase sólida, una fase acuosa y una fase oleosa. El aceite empleado en este estudio fue obtenido mediante este proceso y no sufrió ningún proceso de

7. Obtención de biodiesel a partir de aceite de salmón

refino posterior. Su contenido en ácidos grasos libres resultó del 8.3% (expresado como ácido oleico). Por este motivo, no puede someterse a una transesterificación básica directamente, ya que los ácidos grasos libres pueden ser neutralizados consumiendo catalizador y formando jabones que dificultan las posteriores etapas de purificación. La estrategia seguida es la producción de biodiesel mediante 2 etapas consecutivas: una primera etapa de esterificación ácida donde los ácidos grasos libres se convierten en ésteres metílicos de manera que no interfieren en la siguiente etapa, una transesterificación básica para convertir los triglicéridos en ésteres metílicos.

La caracterización del aceite de salmón suministrado se llevó a cabo mediante los métodos descritos en el capítulo 4. Al igual que en el caso de los aceites vegetales, la composición de ácidos grasos fue analizada por un laboratorio externo. Las propiedades y composición se muestran en la Tabla 7.1.

Ácidos grasos (% m/m)				
Mirístico	<i>C14:0</i>	2.74	Total saturados	16.2
Pentadecanoico	<i>C15:0</i>	0.19	Saturados <i>C4-C14</i>	2.74
Palmítico	<i>C16:0</i>	9.73	Saturados <i>C16-C24</i>	13.46
Palmitoleico	<i>C16:1</i>	2.9	Total insaturados	78.81
Heptadecanoico	<i>C17:0</i>	0.21	Monoinsaturados	46.11
Estearico	<i>C18:0</i>	2.58	Poliinsaturados	32.7
Oleico	<i>C18:1n9</i>	36.86	Propiedades	
Linoleico	<i>C18:2n6</i>	12.5	Acidez (mg KOH/g)	16.75
Linolénico	<i>C18:3n3</i>	4.43	Índice de Yodo (gI ₂ /100g)	133
γ-Linolénico	<i>C18:3n6</i>	0.11	Peróxidos (meq/kg)	5.94
Araquídico	<i>C20:0</i>	0.3	Periodo de Inducción (h)	
Gadoleico	<i>C20:1</i>	4.3	Viscosidad (mm ² /s)	33.61
Eicosadienoico	<i>C20:2</i>	1.1	Humedad (mg/kg)	0.14
Eicosatrienoico	<i>C20:3n3</i>	0.46		
Eicosatrienoico	<i>C20:3n6</i>	0.24		
Araquidónico	<i>C20:4n6</i>	0.31		
Behénico	<i>C22:0</i>	0.14		
Erúico	<i>C22:1n9</i>	1.45		
Lignocérico	<i>C24:0</i>	0.1		
Docosapentanoico	<i>C22:5</i>	1.48		
Eicosapentaenoico	<i>C20:5n3</i>	3.09		
Nervónico	<i>C24:1</i>	0.5		
Docosahexenoico	<i>C22:6n3</i>	4.88		
Otros ($< 0.05\%$ m/m)		9.4		

Tabla 7.1. Composición y análisis del aceite de salmón.

7.1. Optimización de la esterificación de los ácidos grasos libres del aceite de salmón

En esta primera parte se realizó una optimización de la esterificación ácida, empleando el diseño de experimentos y la metodología de superficie de respuesta. La respuesta medida fue la conversión de ácidos grasos libres y las variables objeto de estudio fueron la temperatura de reacción (T), la relación molar metanol:aceite (MR) y el tiempo de reacción (t).

7.1.1. Diseño de experimentos

Los procesos de transesterificación y esterificación no se ajustan de manera fiable a modelos de primer orden (Vicente et al., 1998; Vicente et al., 2007; El Boulifi et al., 2010; Boaid et al., 2010; Bouaid et al., 2012;). Aunque se realizó el diseño para obtener un modelo de primer orden y poder corroborar este hecho (aparece en el Anexo III del presente trabajo), los niveles de las variables objeto de estudio fueron escogidos con vistas a realizar un diseño experimental para ajustar a un modelo de segundo orden. Los diseños de segundo orden son “rotables”, es decir, que la varianza de la respuesta predicha en algún punto es función sólo de la distancia del punto al centro y es independiente de la dirección. Este tipo de diseño de experimentos emplean los experimentos de un diseño factorial de primer orden (niveles +1 y -1), los experimentos en los puntos centrales (que corresponden al nivel 0) y experimentos en un tercer nivel, denominados puntos estrella o axiales (+ α y - α). Estos experimentos se realizan manteniendo dos variables en su punto central (nivel 0) y fijando la otra variable en el nivel α , que se determina como $2^{k/4}$, siendo k el número de variables de estudio, en este caso 3.

De esta manera, los intervalos de las variables de operación se eligieron a partir del punto central (nivel 0) y los puntos superior e inferior (nivel + α y - α). A partir de ellos se calcularon los niveles +1 y -1.

- (a) Temperatura de reacción (T): la temperatura de reacción viene determinada por la temperatura de ebullición del metanol (~338 K) y por la temperatura de fusión del aceite de pescado (~266 K). Se eligió como nivel superior la temperatura de ebullición del metanol, 65°C (338 K) y como nivel inferior 35°C (308 K).

- (b) Relación molar metanol:aceite (MR): aunque existen estudios que emplean cantidades elevadas de metanol en la pre-esterificación de los ácidos grasos (Canakci y Van Gerpen, 2001; Berchmans e Hirata, 2008) con menores cantidades de metanol pueden conseguirse elevadas conversiones de ácidos grasos libres. El nivel medio empleado es 6:1, y los niveles inferior y superior fueron 1:1 y 11:1.
- (c) Tiempo de reacción (t): se ha establecido para el tiempo de reacción un máximo de 140 minutos y un mínimo de 40 minutos. Acorde a la bibliografía consultada, a partir de 120-140 minutos la conversión aumenta de manera poco significativa (Marchetti y Errazu, 2008; Encinar et al., 2011; Farag et al., 2011).

Variable y nivel	- α	-1	0	1	+ α
T: Temperatura (K)	308	314	323	332	338
RM: relación molar metanol:aceite	1:01	3:01	6:01	9:01	11:01
t: tiempo de reacción (min)	40	60	90	120	140

Tabla 7.2. Valores de los niveles de las variables de operación.

La velocidad de agitación se mantuvo constante en todos los experimentos y fue de 300 rpm. Los experimentos se realizaron a presión atmosférica y la cantidad de catalizador empleado fue del 3% (respecto al peso de aceite).

Tras realizar el diseño de experimentos para ajustar a un modelo de primer orden y corroborar que existía curvatura (ver Anexo III), se añadieron nuevos experimentos al diseño incluyendo los puntos axiales o estrella. Los experimentos se realizaron de manera aleatoria para evitar sesgos y garantizar la independencia de los errores. La metodología y reactivos empleados han sido descritos en la sección 3.3.1. *Esterificación del aceite de salmón*, y la acidez de las muestras se analizó mediante el ensayo descrito en la sección 4.2.4.2. *Determinación de la acidez mediante valorimetría manual*. De esta manera, se obtuvo la conversión de ácidos grasos para cada experimento.

Experimento	X _T	X _{MR}	X _t	T (K)	MR	t (min)	Conversión FFA (%)
1	1	-1	-1	332	3	60	81.70
2	1	-1	1	332	3	120	88.44
3	0	0	0	323	6	90	86.27
4	1	1	-1	332	9	60	90.65
5	-1	-1	1	314	3	120	62.33
6	-1	1	-1	314	9	60	89.13
7	0	0	0	323	6	90	88.11
8	-1	1	1	314	9	120	90.73
9	0	0	0	323	6	90	88.50
10	1	1	1	332	9	120	91.69
11	-1	-1	-1	314	3	60	45.64
12	0	0	0	323	6	90	86.05
13	α	0	0	338	6	90	92.43
14	$-\alpha$	0	0	308	6	90	78.60
15	0	α	0	323	11	90	93.22
16	0	$-\alpha$	0	323	1	90	36.64
17	0	0	α	323	6	140	91.14
18	0	0	$-\alpha$	323	6	40	73.04

Tabla 7.3. Matriz de experimentos y resultados.

Una vez obtenidos los resultados se realizó el análisis estadístico del modelo de segundo orden obtenido, cuyos parámetros se recogen en la tabla 7.4.

<i>Valor medio del diseño factorial</i>	$\bar{y} = 87.07$
	$I_T = 12.87$
	$I_{MR} = 26.25$
	$I_t = 8.28$
	$I_T^2 = -0.11$
<i>Efectos principales e interacciones</i>	$I_{TMR} = -14.93$
	$I_{Tt} = -2.63$
	$I_{MR}^2 = -14.67$
	$I_{MRt} = -5.20$
	$I_t^2 = -2.53$
<i>Análisis estadístico de la correlación</i>	
Coeficiente de regresión R^2	94.65 %
Error típico de estimación	5.53
Error medio absoluto	2.82

Tabla 7.4. Análisis estadístico para el modelo de segundo orden.

La figura 7.1 muestra la representación gráfica de los valores de conversión de ácidos grasos libres teóricos frente a los obtenidos experimentalmente. A su vez, se realizó el análisis de residuos y se hizo la representación gráfica de las desviaciones frente a los valores teóricos para la variable respuesta analizada (figura 7.2). La gráfica no muestra ningún patrón obvio; las desviaciones presentan una distribución aleatoria por lo que el modelo no lineal obtenido es adecuado.

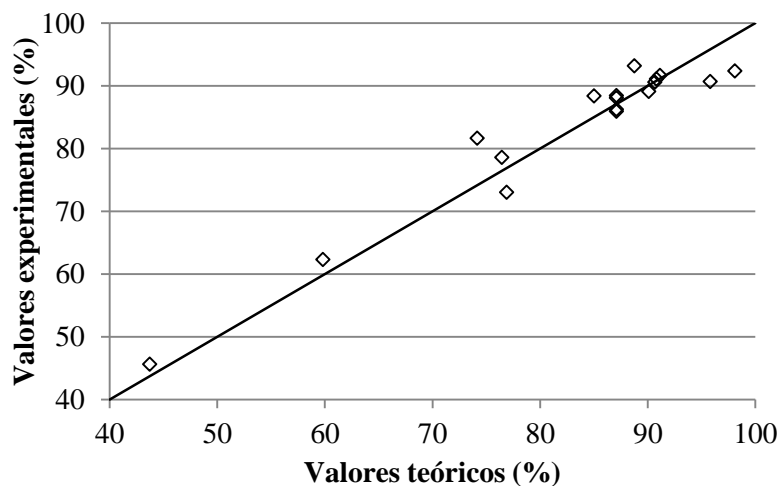


Figura 7.1. Representación de los valores experimentales frente a los teóricos de la conversión de ácidos grasos libres.

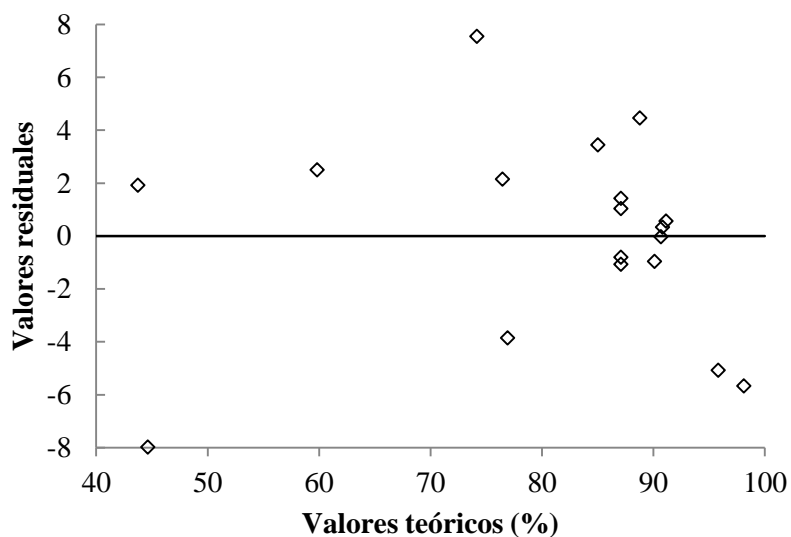


Figura 7.2. Representación de los valores residuales frente a los teóricos de la conversión de ácidos grasos libres.

Los modelos estadístico e industrial de segundo orden se obtienen por regresión múltiple de los datos experimentales. El modelo estadístico emplea los valores codificados de las variables, mientras que el modelo industrial ajusta las variables en sus valores no codificados:

MODELO ESTADÍSTICO
$X_{FFA} (\%) = 87.07 + 6.44 \cdot X_T + 13.12 \cdot X_{MR} + 4.14 \cdot X_t + 0.07 \cdot X_T^2 - 7.75 \cdot X_T \cdot X_{MR} - 1.31 \cdot X_T \cdot X_t - 7.21 \cdot X_{MR}^2 - 2.60 \cdot X_{MR} \cdot X_t - 1.14 \cdot X_t^2$
MODELO INDUSTRIAL
$X_{FFA} (\%) = -757.29 + 1.83 \cdot T + 105.96 \cdot MR + 2.105 \cdot t + 0.0015 \cdot T^2 - 0.27 \cdot T \cdot MR - 0.0049 \cdot T \cdot t - 0.809 \cdot MR^2 - 0.029 \cdot MR \cdot t - 0.0012 \cdot t^2$

Tabla 7.5. Modelos matemáticos de segundo orden.

7.1.2. Influencia de las variables de operación sobre la conversión de ácidos grasos libres

La variable que ejerció mayor influencia sobre la conversión de ácidos grasos fue la relación molar metanol:aceite (MR). A esta le siguieron la temperatura (T) y el tiempo (t). La influencia de las tres variables resultó positiva, lo que indica que la conversión de ácidos grasos libres aumentó cuando se incrementaban los valores de las variables estudiadas.

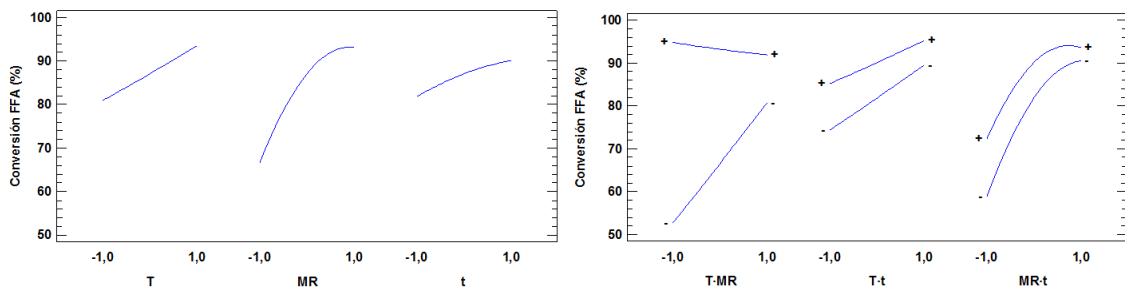


Figura 7.3. Efectos principales e interacciones entre los factores.

Del análisis de la gráfica de los efectos de las interacciones de los factores se extrajeron tres conclusiones. La interacción temperatura-relación molar metanol:aceite (T·MR) resultó positiva, es decir, a medida que aumenta la temperatura, el incremento de la relación molar provoca aumento en los valores de conversión. Sin embargo, a medida que aumentó el MR, el

aumento de temperatura no produjo cambios significativos en los valores de conversión, sino que incluso se obtuvieron valores menores al trabajar a altas temperaturas.

En el caso de las interacciones $T \cdot t$ y $MR \cdot t$, resultaron también positivas, aunque mucho menos significativas que en el caso anterior. Al aumentar el tiempo de temperatura de la reacción, la influencia del tiempo resultó menos significativa. De igual manera, a valores de MR elevados, el tiempo de reacción pierde influencia sobre la conversión.

7.1.3. Superficies de respuesta

A continuación se recogen las superficies de respuesta generadas por el modelo de segundo orden. En cada una se representa la evolución de la variable respuesta, la conversión de ácidos grasos libres, en función de dos de las variables objeto de estudio, fijando la tercera en el punto central del diseño.

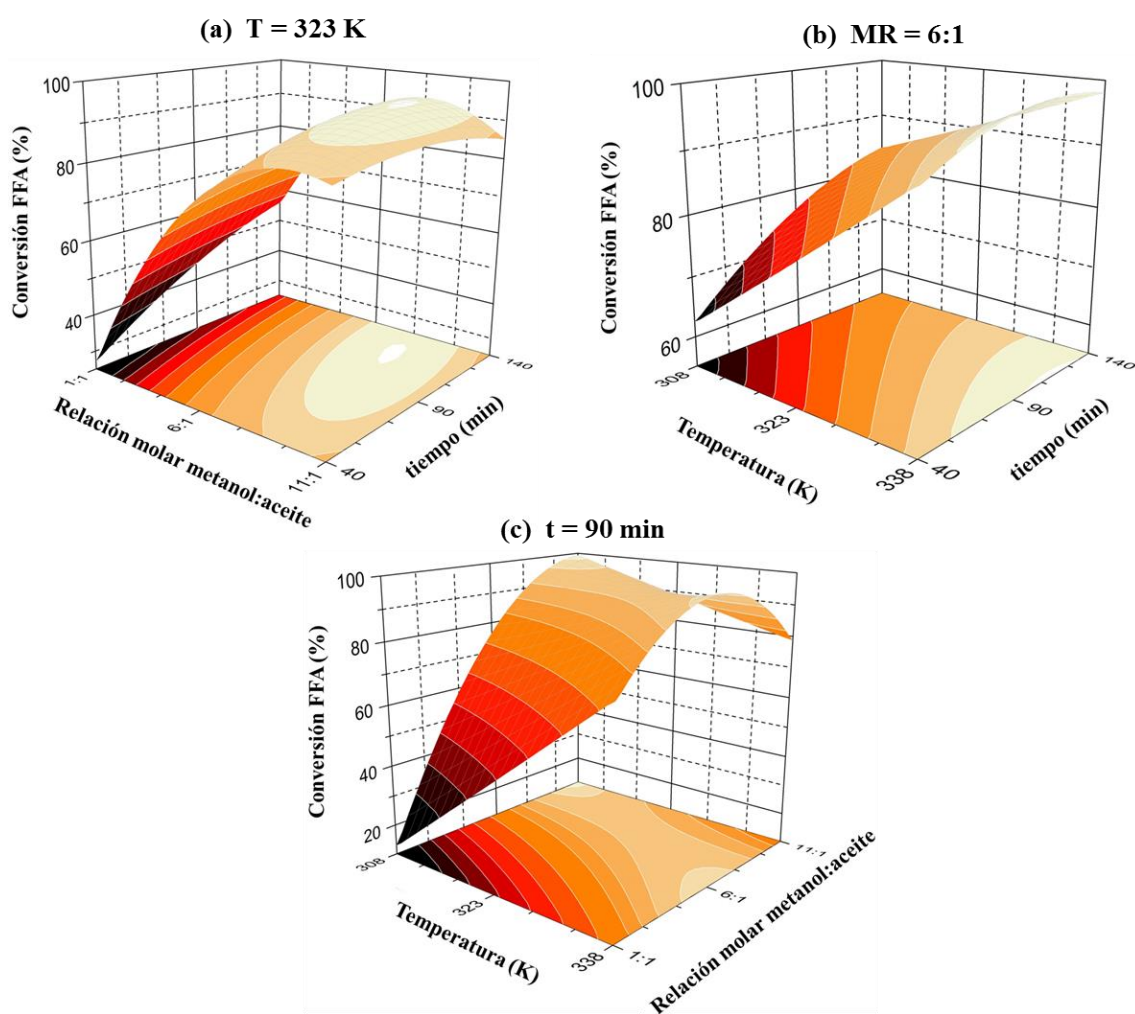


Figura 7.4. Superficies de respuesta generadas por el modelo de segundo orden.

La figura 7.4.a es la superficie de respuesta a una temperatura constante de 323 K. La conversión aumenta tanto con la relación molar metanol:aceite como con el tiempo de reacción. Para elevados valores del tiempo de reacción el modelo predice una disminución en la respuesta si se aumenta la relación aceite:metanol por encima de un determinado valor. A partir de un cierto valor, lo esperable es que se produzca una respuesta asintótica: a partir de unas condiciones dadas de tiempo y cantidad de metanol, la conversión máxima de ácidos grasos no disminuiría a menos que se produjeran reacciones secundarias como puede ser la hidrólisis. Una posible explicación podría ser la incapacidad de los modelos polinómicos para ajustarse a respuestas asintóticas.

La figura 7.4.b es la superficie generada para un valor fijo de la variable MR (6:1). Para temperaturas de operación elevadas, la variable tiempo de reacción tiene poca influencia en la conversión obtenida. Incluso para tiempos cortos, se predicen conversiones elevadas si la temperatura es elevada.

La última superficie de respuesta se muestra en la figura 7.4.c. Se trata de la evolución de la conversión con la temperatura y la cantidad de metanol para un tiempo de reacción fijado en 90 minutos. En esta figura, puede observarse como se obtiene un “punto silla”. Este punto, aunque con pendiente nula, no es un máximo ni un mínimo, sino un punto a partir del cual la respuesta aumenta según se desplazan las variables hacia una dirección, y la respuesta disminuye si este desplazamiento tiene lugar en la dirección perpendicular.

Para el valor máximo de relación molar metanol:aceite, el modelo predice una respuesta mayor para temperaturas bajas. En condiciones de reacción favorables, las diferencias entre las conversiones alcanzadas son mínimas, lo que hace que tenga mucha mayor influencia la precisión del método de análisis empleado.

7.1.4. Determinación de las variables de operación óptimas

Según diferentes autores, la cantidad máxima de ácidos grasos libres presentes en el aceite que evita problemas en la transesterificación básica varía entre 1 y 2 % (m/m) (El-Mashad et al., 2008). La conversión de ácidos grasos libres necesaria sería por tanto de 84% para una concentración final de ácidos grasos libres del 1%. Este valor disminuye al 76% si se acepta una concentración del 2%. Bajas temperaturas, tiempo de reacción y cantidades de metanol reducen los costes de operación por lo que existen numerosos puntos que pueden establecerse

7. Obtención de biodiesel a partir de aceite de salmón

como óptimo económico. En la tabla 8.6 se muestran posibles combinaciones. En cada caso, la variable a minimizar (que aparece en negrita) se mantuvo entre los niveles $-\alpha$ y -1 , mientras que las otras dos variables variaban en el rango completo estudiado, es decir, entre los valores correspondientes a los niveles $-\alpha$ y $+\alpha$. Las condiciones óptimas de operación se obtuvieron mediante aproximación al valor de conversión fijado (88 y 76%) desde los valores mínimos de las variables estudiadas.

Conversión FFA	Variable minimizada	MR	T (K)	t (min)
88% (Final FFA 1%)	MR (1:1-3:1)	2.5:1	335	135
	T (308-314 K)	7.7:1	310	80
	t (40-60 min)	8.4:1	322	49
76% (Final FFA 2%)	MR (1:1-3:1)	2.4:1	327	138
	T (308-314 K)	5.9:1	308	90
	t (40-60 min)	6.3:1	318	45

Tabla 7.6. Combinaciones de variables que dan lugar a conversiones de ácidos grasos de 88 y 76%.

7.2. Estudio cinético de la esterificación de los ácidos grasos libres del aceite de salmón

Para el estudio cinético se realizaron 27 reacciones en las que se varió la concentración de catalizador, la temperatura y la relación molar metanol:aceite. Se mantuvieron fijas la presión (presión atmosférica), la velocidad de agitación (300 rpm) y el tiempo de reacción (180 min).

Catalizador (% m/m)	Temperatura (K)	Relación molar Metanol: Aceite
1	314	3:01
3	323	6:01
5	332	9:01

Tabla 7.7. Condiciones de operación empleadas para la obtención del modelo cinético.

El procedimiento y reactivos empleados fueron descritos en la sección 3.3.1 *Esterificación del aceite de salmón*. Se tomaron muestras en intervalos de tiempo irregulares: la toma de muestras se hizo con mayor frecuencia al comienzo de la reacción, y posteriormente se fue espaciando. La acidez de las muestras se analizó mediante el ensayo descrito en la sección 4.2.4.2. *Determinación de la acidez mediante valorimetría manual*. Los resultados experimentales de las 27 reacciones pueden consultarse en el Anexo V de este trabajo, donde se incluye el artículo publicado en base a los resultados obtenidos (Serrano et al., 2015).

7.2.1. Descripción del modelo cinético

El mecanismo cinético propuesto fue desarrollado por Straiweiser et al. (Straiweiser et al., 1985) y es el mecanismo aceptado para la esterificación de ácidos carboxílicos. El mecanismo completo está formado por 6 reacciones reversibles elementales consecutivas. La primera etapa es la captura de un ión hidrógeno del ácido sulfúrico concentrado para formar un sustrato carboxílico protonado. En la segunda etapa, el metanol, muy nucleófilo, reacciona con el sustrato protonado dando lugar a un intermedio. Las reacciones 3 y 4 suponen la consecutiva desorción y absorción de un protón para dar lugar a otros dos compuestos intermedios. En la quinta y sexta etapa tiene lugar la formación de una molécula de agua y la pérdida de un protón dando lugar al éster metílico y a la regeneración del catalizador.

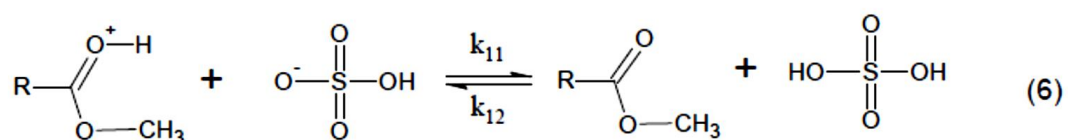
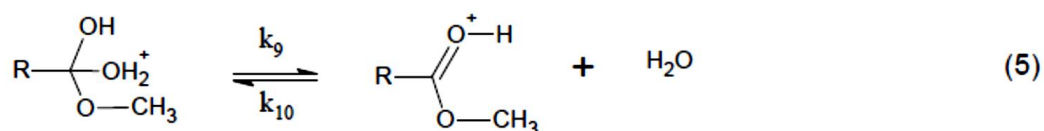
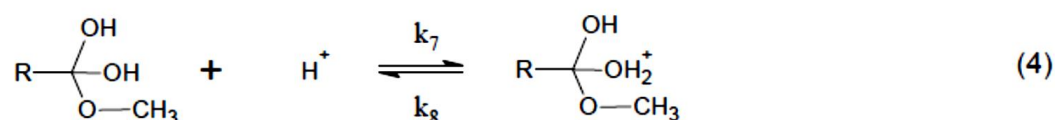
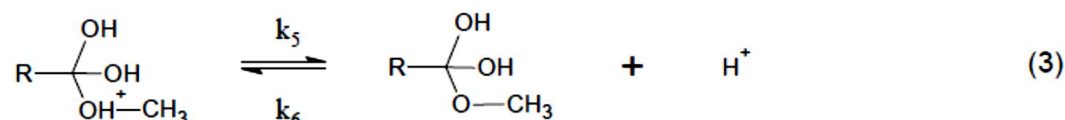
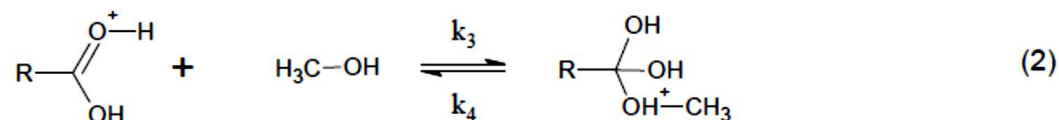
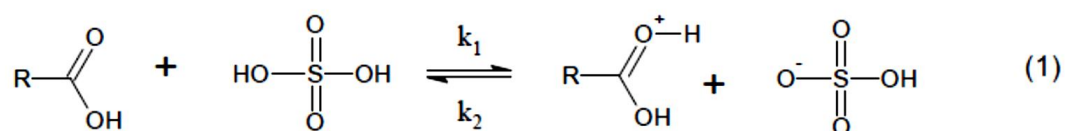


Figura 7.5. Esquema de reacción para la esterificación de ácidos carboxílicos (Straiweiser et al., 1985).

En el presente estudio, se redujeron las etapas a 4, simplificando la transferencia (desorción y absorción) del protón en las etapas intermedias (3 y 4).

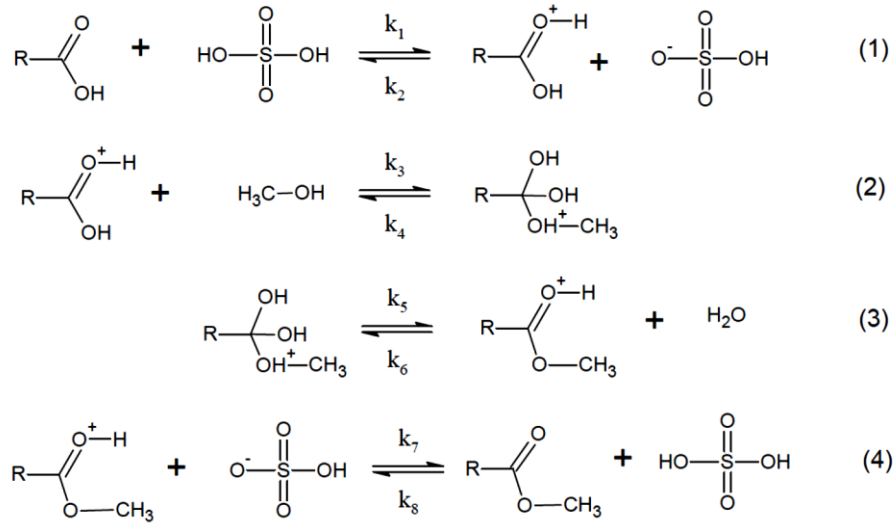


Figura 7.6. Esquema de reacción para la esterificación de ácidos grasos libres empleado en este estudio.

Para plantear las ecuaciones cinéticas se hicieron las siguientes consideraciones:

- La esterificación tiene lugar en la fase formada por los triglicéridos y no existen limitaciones de transferencia de materia.
- No se considera la transesterificación simultánea de los triglicéridos.
- No tiene lugar la alquilación del ácido sulfúrico por parte del metanol.

Se llevó a cabo una reacción en ausencia de catalizador y con las condiciones de operación más favorables (332 K, relación molar metanol:aceite de 9:1) para asumir que la esterificación no tiene lugar sin catalizador en el medio.

La elevada viscosidad del aceite y la limitada miscibilidad del metanol y el aceite son factores que hacen muy importante la agitación de la mezcla de reacción para evitar limitaciones de transferencia de materia. Los sistemas binarios ácido graso libre-aceite y ácido graso libre-metanol son completamente miscibles. La miscibilidad del sistema ternario aceite-ácido graso libre-metanol aumenta con la temperatura y con la concentración de ácidos grasos libres. Todos los experimentos se realizaron a 300 rpm, agitación suficiente para minimizar los fenómenos de transferencia de materia. La esterificación de los ácidos grasos libres resultó ser instantánea, lo que se encuentra en consistencia con anteriores estudios (Liu y Li, 2009).

Numerosos estudios han confirmado que la etapa controlante de la reacción en el ataque del alcohol nucleófilo al sustrato carbonilo protonado, etapa (2) según el mecanismo mostrado en la figura 7.6. Asumiendo que se trata de la etapa controlante, se obtuvieron las ecuaciones cinéticas de la esterificación de los ácidos grasos libres:

$$-\frac{dC_{FFA}}{dt} = m \cdot \left[k_3 \cdot \frac{k_1}{k_2} \cdot C_{FFA} \cdot C_M - \left(k_4 \cdot \frac{k_6}{k_5} \cdot \frac{k_8}{k_7} \cdot C_E \cdot C_W \right) \right]$$

$$C_{FFA} = C_{FFA_0} \cdot (1 - X_{FFA})$$

Donde C_{FFA} : concentración de ácidos grasos libres, C_{A0} : concentración de ácidos grasos libres inicial, C_M : concentración de metanol, C_E : concentración de ésteres metílicos, C_W : concentración de agua, todos en mol/l, X_{FFA} : conversión de ácidos grasos libres, adimensional, m : concentración de catalizador, en kg/l.

La concentración de catalizador puede expresarse mediante el balance de sitios totales:

$$m = \frac{m_0}{1 + \frac{k_1}{k_2} \cdot C_{FFA} + \frac{k_6}{k_5} \cdot \frac{k_8}{k_7} \cdot C_E \cdot C_W + \frac{k_8}{k_7} \cdot C_E}$$

Donde m_0 es la concentración inicial de catalizador en kg/l.

Para facilitar la estimación de los parámetros cinéticos, sólo las constantes involucradas en la reacción controlante son consideradas constantes cinéticas y fueron expresadas por medio de la ecuación de Arrhenius:

$$k_{3,4} = k_{3\infty,4\infty} \cdot \exp\left(-\frac{Ea_{3,4}}{R \cdot T}\right)$$

Donde $k_{3\infty,4\infty}$ son los factores pre-exponenciales, $Ea_{3,4}$ es la energía de activación de las reacciones 3 y 4 en cal/mol, R es la constante de los gases ideales (1.987 cal/(K·mol)) y T es la temperatura en K.

El resto de las constantes fueron consideradas como constantes de adsorción, no dependientes de la temperatura, denominadas K_i . Fueron agrupadas y se sustituyeron por las siguientes expresiones:

$$K_1 = \frac{k_1}{k_2} ; K_2 = \frac{k_6 \cdot k_8}{k_5 \cdot k_7} ; K_3 = \frac{k_8}{k_7}$$

De esta manera se obtuvieron las siguientes expresiones simplificadas para la velocidad de reacción de los ácidos grasos libres y la concentración del catalizador:

$$-\frac{dC_A}{dt} = m \cdot [k_3 \cdot K_1 \cdot C_{FFA} \cdot C_M - (k_4 \cdot K_2 \cdot C_E \cdot C_W)]$$

$$m = \frac{m_0}{1 + K_1 \cdot C_{FFA} + K_2 \cdot C_E \cdot C_W + K_3 \cdot C_E}$$

Los parámetros cinéticos se obtuvieron mediante el software Aspen Plus V7.0. Cuenta con una rutina de ajuste basado en el algoritmo de Marquardt. Consiste en la minimización de una función objetivo, cuantificando las diferencias entre los valores estimados por el programa y los experimentales introducidos por el usuario. Los valores obtenidos así como los parámetros estadísticos del ajuste se muestran en la tabla 7.8.

Parámetro	Unidades	Valor
Ea ₃	cal/(mol)	7991
Ea ₄	cal/(mol)	407
k _{3∞}	l/(kg·min)	76190
k _{4∞}	l·mol/(kg·min)	1.54·10 ⁶
K ₁	l/mol	18.12
K ₂	l ² /mol ²	1.06·10 ⁻⁵
K ₃	l/mol	58.09
Suma de residuos al cuadrado		2.8·10 ⁻¹
Error estándar del estimado		2.5·10 ⁻²
Coeficiente de regresión		91%

Tabla 7.8. Parámetros cinéticos.

La energía de activación de la reacción directa (Ea₃) estimada es de la misma magnitud a la publicada en otros estudios de esterificación (Sendzikien et al., 2004; Berrios et al., 2007; Satriana y Supardan, 2008; Thiruvengadaravi et al., 2009; Marchetti et al., 2011).

7.2.2. Validación del modelo cinético

Los resultados de todas las reacciones pueden consultarse en el Anexo IV de este trabajo. En las gráficas de este anexo se muestra la evolución temporal de la conversión de los ácidos grasos libres en distintas condiciones de operación, así como el modelo cinético que ajusta los datos experimentales.

En general, el modelo predice de manera bastante aceptable los datos experimentales de todas las reacciones, excepto en el caso encontrarnos en los límites del modelo, como ocurre en las gráficas que muestran los resultados en las condiciones de temperatura, relación molar metanol aceite y concentración de catalizador: 314K, 3:1, 5% o 332K, 9:1, 1% (Anexo IV). Se plantearon diferentes hipótesis ante estos resultados. La primera fue el error experimental. Sin embargo, el orden seguido para la realización de las reacciones fue completamente aleatorio, de manera que se evitan sesgos en la estimación del error.

Otra hipótesis fue la existencia de fenómenos de transferencia de materia. Como ya se ha comentado, el metanol y el aceite son muy poco miscibles. Cuando existen fenómenos de transferencia de materia, las curvas generadas a partir de los resultados presentan una forma sigmoidea. Esta forma indicaría la existencia de dos mecanismos de reacción, es decir, una región controlada por la transferencia de materia (baja velocidad de reacción) y otra controlada por la cinética de la reacción. La forma de las curvas obtenidas en este estudio no hizo pensar en la existencia de fenómenos de transferencia de materia, puesto que en ningún caso se observó un tiempo de latencia al comienzo de los experimentos.

La última hipótesis se deriva de la obtención del modelo matemático. Como puede observarse en las gráficas del Anexo IV, podría decirse que el modelo subestima el peso de la variable cantidad de metanol y sobreestima la influencia de la cantidad de catalizador en las condiciones extremas de la experimentación.

El modelo cinético obtenido se aplicó para ajustar los datos experimentales de reacciones con condiciones de operación diferentes a las empleadas para la obtención de los parámetros (Figura 7.7). Se emplearon los resultados de algunas reacciones que habían sido utilizadas en el diseño de experimentos del apartado anterior.

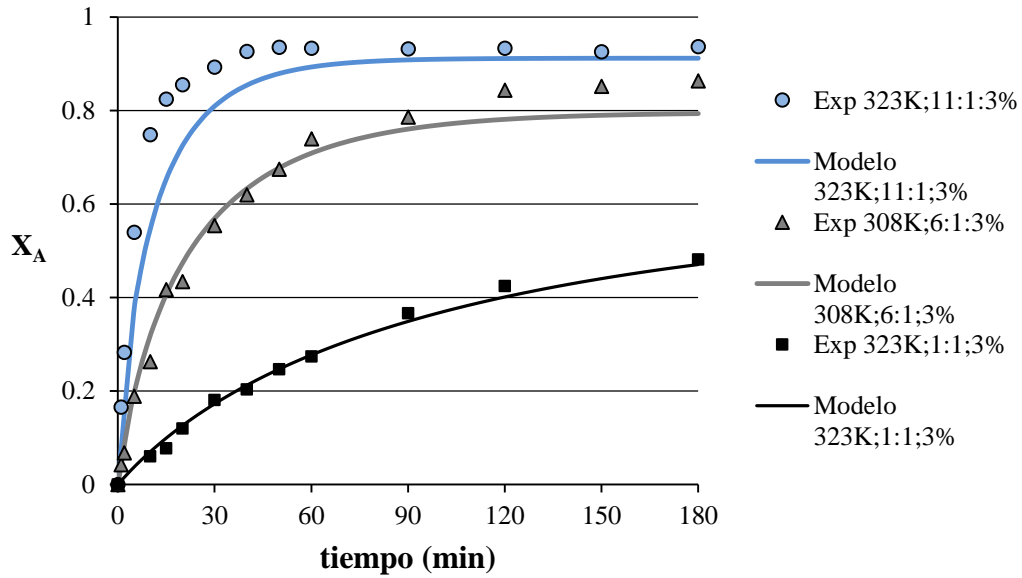


Figura 7.7. Representación de datos experimentales y modelo cinético para reacciones en condiciones fuera del intervalo estudiado.

7.3. Propiedades de los ésteres metílicos del aceite de salmón

El aceite de salmón fue sometido a esterificación y transesterificación según el proceso descrito en sección 3.3.2 de este trabajo. Una vez obtenido, se evaluaron sus propiedades, que aparecen en la tabla 7.9.

Propiedades	
Ácidos grasos libres (% m/m)	0.23
Densidad (kg/m ³)	891
Índice de Yodo (gI ₂ /100g)	135
Peróxidos (meq/kg)	16.12
Viscosidad cinemática (mm ² /s)	4.55
CFPP (°C)	-7
Punto de niebla (°C)	-6
Punto de inflamación (°C)	175
Periodo de inducción (h)	0.95 ^a 0.91 ^b

Tabla 7.9. Propiedades de los ésteres metílicos del aceite de salmón.

La viscosidad cinemática se encuentra dentro del rango requerido por la norma Europea EN14214. En previos estudios publicados se encontraron valores similares para la viscosidad

de ésteres metílicos provenientes de aceite de pescado. Reyes y Sepúlveda analizaron la viscosidad de ésteres metílicos de aceite de salmón, resultando un valor de $4.96 \text{ mm}^2/\text{s}$ (Reyes y Sepúlveda, 2006). Valores similares fueron obtenidos por Yahyaee et al. ($4.21\text{-}4.72 \text{ mm}^2/\text{s}$) (Yahyaee et al., 2013). García Moreno et al. midieron la viscosidad de ésteres resultantes de la transesterificación de una mezcla que contenía 90% aceite de salmón y un 10% de otros pescados (García Moreno et al., 2014). La viscosidad medida fue superior a $6 \text{ mm}^2/\text{s}$. Sin embargo, la temperatura del análisis fue de 30°C , con lo que cabe esperar que este valor disminuya si se realiza a 40°C (Yuang et al., 2009; Chavarria y Pacheco, 2014), tal y como especifica el método de ensayo descrito por la norma EN 14214 (EN ISO 3104).

Las propiedades en frío analizadas fueron el punto de obstrucción de filtros en frío (CFPP) y el punto de niebla o enturbamiento (CP). Comparado con otros ésteres derivados de fuentes animales y aceites vegetales alternativos, un valor de CFPP de -7°C resultó bastante satisfactorio. Algunos ejemplos son biodiesel de aceite de *jatropha* (0°C), sebo ($10\text{-}14^\circ\text{C}$), grasa de pollo (3°C), grasa vacuna (11°C) o aceite de subproductos de anchoa (4°C) (Echim et al., 2012; Altun y Lapuerta, 2014). Los valores obtenidos se encontraron a su vez en concordancia con los obtenidos en previas investigaciones con aceite de salmón (Chiou, 2008). El contenido en ácidos grasos saturados del aceite de salmón es bajo y además los ácidos grasos altamente poliinsaturados representan una fracción no despreciable sobre el total, especialmente en eicosapentaenoico (C22:5) y docosahexaenoico (C22:6).

El índice de Yodo ($135 \text{ gI}_2/100\text{g}$) es superior al permitido por la EN 14214 (max $120 \text{ gI}_2/100\text{g}$), aunque en España este valor está modificado por el Real Decreto 1088/2010, que establece un límite máximo de 140.

El contenido en peróxidos es una medida también de la degradación del biodiesel. Cuando se trabajó con aceites vegetales, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de peróxidos entre el aceite y los ésteres metílicos. Sin embargo, el valor de peróxidos del aceite de salmón resultó ser de 5.94 meq/kg frente a 16.12 en el caso de los ésteres metílicos. Este aumento puede deberse a la degradación sufrida durante el procesado, especialmente las etapas de destilación (una tras la esterificación y otra tras la transesterificación), ya que se trabaja a temperaturas elevadas. Shativel et al. estudiaron la influencia de los métodos de extracción en las propiedades del aceite de pescado (Shativel et al., 2009). Las muestras que habían sido obtenidas por medio de operaciones que requieren elevadas temperaturas presentaron mayor contenido de peróxidos. Es posible que los aceites vegetales empleados en

la primera parte de este estudio presentaran mayor resistencia a la degradación térmica, debido principalmente a su perfil lipídico o bien, a que al no precisar de una esterificación previa, sólo fueron sometidos una vez a destilación.

La estabilidad a la oxidación de los ésteres metílicos del aceite de salmón resultó ser 0.95 horas cuando el producto se purificaba con agua destilada y 0.91 horas cuando se hacía con una disolución 0.1 M de ácido cítrico. Es posible que la purificación con ácido cítrico no sea un método eficaz para aumentar la estabilidad a la oxidación de un sistema lipídico deteriorado o muy propenso a la oxidación, como es el caso del aceite de pescado. Otros valores publicados para la estabilidad de ésteres derivados de materias primas con elevado porcentaje de insaturaciones aparecen en la tabla 7.10.

Materia prima	Salmon	Soja	Salmon	Linaza	Trucha	Camelina (Ramos y Perez, 2013)	Annona (Costa Branco et al., 2010)
Referencia	(Vauhkonen et al., 2009)						
Ácidos grasos (% m/m)							
Saturados	16.2	14.6	21.7	7.9	17.4	8.63	24.15
Monoinsaturados	46.11	24	43.9	14.2	45.7	32.96	38.58
Poliinsaturados (2,3 insaturaciones)	23.25	61.3	15.8	77.9	16.9	54.73	37.28
Poliinsaturados (≥4 insaturaciones)	9.45	0	18.6	0	16.9	1.47	0
Propiedades							
Ácidos grasos libres (% m/m)	0.23	0.08	0.08	0.13	0.21	0.08	0.15
Densidad (kg/m³)	891	889	894	895	886	888	871
Índice de Yodo (gI ₂ /100g)	135	130	145	203	137	152	99
Peróxidos (meq/kg)	16.12	4.91	-	-	-	-	-
Viscosidad cinemática (mm²/s)	4.55	4.8	4.8	-	-	4.3	4.4
CFPP (°C)	-7	-4	-	-	-	-4	-5
Punto de niebla (°C)	-6	2	-	-	-	0	1
Punto de inflamación (°C)	175	161	170	170	172	152	-
Periodo de inducción (h)	0.95 ^a 0.91 ^b	2.85	-	0.1	0.7	1.3	1.17

Tabla 7.10. Propiedades de ésteres metílicos derivados de materias primas con alto contenido en ácidos grasos insaturados.

Como ha sido descrito anteriormente, la tasa relativa de oxidación de los ácidos grasos es: 1 para el ácido esteárico (C18:0), 100 para el ácido oleico (C18:1), 1200 para el ácido linoleico (C18:2) y 2500 para el ácido linolénico (C18:3). En el caso del ácido docohexaenoico (C22:6), su tasa de oxidación es 5 veces mayor que la del ácido linolénico. La presencia de ácidos grasos poliinsaturados confiere al aceite de salmón baja resistencia frente a la oxidación, y por tanto, lo mismo ocurre a los ésteres metílicos. La oxidación del aceite puede producirse durante la extracción y almacenamiento del aceite. Con independencia del método de extracción empleado, el aceite puede contener elementos que catalizan las reacciones de oxidación, como es el caso del hierro (Yin et al., 2011). Este metal está asociado a hemoproteínas y enzimas, que pueden liberarse durante la extracción (Erickson, 2002). Sin embargo, los bajos valores de la estabilidad a la oxidación de los ésteres metílicos obtenidos en este estudio están en consonancia con otros publicados con anterioridad (Yahyaee et al., 2013).

7.4. Referencias

- Altun S., Lapuerta M. (2014). “Properties and emission indicators of biodiesel fuels obtained from waste oils from the Turkish industry” *Fuel* 128: 288–295.
- Berchmans H.J., Hirata S. (2008). « Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids” *Bioresource Technol* 99: 1716-1721.
- Berrios M., Siles J., Martín M.A., Martín A. (2007). “A kinetic study of the esterification of free fatty acids (FFA) in sunflower oil” *Fuel* 86: 2383–2388.
- Bouaid A., El. Boulifi N., Martínez M., Aracil J. (2012). “Optimization of a two-step process for biodiesel production from *Jatropha curcas* crude oil” *Inter J Low Carbon Technol* 7: 331-337.
- Bouaid A., Martínez M., Aracil J. (2010). “Biorefinery approach for coconut oil valorisation: A statistical study” *Bioresource Technol* 101: 4006-4012.
- Canakci M., Van Gerpen J. (2001). “Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids” *Trans ASAE* 44: 1429–1436.
- Chavarria-Hernández J., Pacheco-Catalán D. (2014). “Predicting the kinematic viscosity of FAMES and biodiesel: Empirical models” *Fuel* 124: 212-220.
- Chiou B.S., El Mashad H.M., Avena-Bustillos R.J., Dunn R.O., Bechtel P.J., McHugh T.H. (2008). “Biodiesel from waste salmon oil” *ASABE* 51: 797–802.
- Costa Branco P., Castilho M.F., Rosa J., Ferreira J. (2010). “Characterization of *Annona Cherimola* Mill. Seed Oil from Madeira Island: A possible biodiesel feedstock” *J Am Oil Chem Soc* 87: 429–436.
- Echim A., Maes J., De Greyt W. (2012). “Improvement of cold filter plugging point of biodiesel from alternative feedstocks” *Fuel* 93: 642–648.
- El Boulifi N., Bouaid A., Martínez M., Aracil J. (2010). “Process Optimization for biodiesel production from corn oil and its oxidative stability” *Inter J Chem Eng ID* 518070.
- El-Mashad H.M., Zhang R., Avena-Bustillos R.J. (2008). “A two-step process for biodiesel production from salmon oil” *Biosystems Eng* 99: 220-227.

- Encinar J.M., Sánchez N., Martínez G., García L. (2011). “Study of biodiesel production from animal fats with high free fatty acid content” *Bioresource Technol* 102: 10907-10914.
- Erickson M.C. (2002). “Lipid oxidation of muscle foods on Food Lipids”. En C.C. Akoh, D.B. Min (Ed.), *Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (pp. 365–411). Marcel Dekker Inc, New York.
- Farag H. A., El-Maghraby A., Taha N. A. (2011). “Optimization of factors affecting sterification of mixed oil with high percentage of free fatty acid” *Fuel Process Technol* 92: 507-510.
- García-Moreno P.J., Khanum M., Guadix A., Guadix E.M. (2014). “Optimization of biodiesel production from waste fish oil” *Renew Energ* 68: 618–624.
- Liu C.Y., Li R.J. (2009). “Engine performance and emission characteristics of marine fish-oil biodiesel produced from the discarded parts of marine fish” *Fuel Process Technol* 99: 883–888.
- Marchetti J. M., Errazu A. F. (2008). «Esterification of free fatty acids using sulphuric acid as catalyst in the presence of triglycerides” *Biomass Bioenerg* 32: 892-895.
- Marchetti J.M., Pedernera M.N., Schbib N.S. (2011). “Production of biodiesel from acid oil using sulfuric acid as catalyst: Kinetics study” *Int J Low Carbon Technol* 6: 38–43.
- Ramos M.J., Pérez A. (2013). “Biodiesel from *Camelina sativa*: A comprehensive characterisation” *Fuel* 105: 572–577.
- Reyes J.F., Sepúlveda M.A. (2006). “PM-10 emissions and power of a Diesel engine fuelled with crude and refined Biodiesel from salmon oil” *Fuel* 85: 1714–1719.
- Satriana D., Supardan M.D. (2008). “Kinetic study of esterification of free fatty acid in low-grade crude palm oil using sulfuric acid” *ASEAN J Chem Eng* 8: 1–8.
- Sendzikiene E., Makareviciene V., Janulis P., Kitrys S. (2004). “Kinetics of free fatty acids esterification with methanol in the production of biodiesel fuel” *Eur J Lipid Sci Technol* 106: 831– 836.
- Serrano M., Marchetti J.M., Martínez M., Aracil J. (2015). “Biodiesel production from waste salmon oil: kinetic modeling, properties of methyl esters, and economic feasibility of a low capacity plant” *Biofuels, Biopr. Biorefin* 9: 516-528.

- Shativel S., Yin H., Prinyawiwatkul W., King J.M. (2009). "Comparisons of chemical and physical properties of catfish oils prepared from different extracting processes" *J Food Sci* 74: 70-76.
- Streitwieser A., Heathcock C., Kosower E. M. (1985). *Introduction to Organic Chemistry*. London: MacMillan
- Thiruvengadaravi K.V., Nandagopal J., Sathya Selva Bala V., Dinesh Kirupha S., Vijayalakshmi P., Sivanesan S. (2009). "Kinetic study of the esterification of free fatty acids in non-edible *Pongamia pinnata* oil using acid catalyst" *Ind J Sci Technol* 2: 20–24.
- Vauhkonen V., Niemi S., Hiltunen E., Salminen H.J., Pasila A. (2009). "The first generation biodiesel: The effects of raw material on physical properties, oxidation stability and emissions" En: *International Conference on Clean Electrical Power*, Italy (pp. 117–123).
- Vicente G., Coteron A., Martínez M., Aracil J. (1998). "Application of the factorial design of experiments and response surface methodology to optimize biodiesel production" *Ind Crops Prod* 8: 29-35.
- Vicente G., Martínez M., Aracil J. (2007). "Optimisation of integrated biodiesel production. Part I. A study of the biodiesel purity and yield" *Bioresource Technol* 98: 1724-1733.
- Yahyaee R., Ghobadian B., Najafi G. (2013). "Waste fish oil biodiesel as a source of renewable fuel in Iran" *Renew Sust Energ Rev* 17: 312–319.
- Yin H., Solval K.M., Huang J., Betchel P.J., Shativel S. (2011). "Effects of oil extraction methods on physical and chemical properties of red salmon oils (*Oncorhynchus nerka*)" *J Am Oil Chem Soc* 88: 1641–1648.
- Yuan W., Hansen A.C., Zhang Q. (2009). "Predicting the temperature dependent viscosity of biodiesel fuels" *Fuel* 88: 1120-1126.

VIII.CONCLUSIONES

Tras la realización de este estudio, se llegaron a las siguientes conclusiones:

1. El uso de una disolución de ácido cítrico en la purificación de la fase de ésteres metílicos reduce la cantidad necesaria de agente de lavado para eliminar impurezas y aumenta la estabilidad a la oxidación del biodiesel resultante, medida como periodo de inducción.
2. La magnitud de este aumento depende de la materia prima empleada para la producción de biodiesel: el aumento es mayor cuando los ésteres metílicos son derivados de aceites saturados, como es el caso del aceite de palma.
3. Entre los aditivos comerciales probados, el galato de propilo proporciona mayor protección frente a los procesos oxidativos que otros antioxidantes fenólicos y que los tocoferoles. Esta protección es mayor también durante el almacenamiento de las muestras.
4. Cuando se evaluó la estabilidad a la oxidación de las muestras almacenadas que contenían 1000 ppm de aditivo antioxidante, no se encontró un patrón claro al observar las diferencias de las muestras lavadas con agua y con ácido cítrico, aunque la mayoría de las muestras lavadas con ácido cítrico seguían teniendo periodos de inducción mayores que las que habían sido lavadas con agua destilada.
5. La estabilidad a la oxidación está determinada por el número de insaturaciones de las cadenas hidrocarbonadas de los ésteres metílicos. Se puede correlacionar esta propiedad con el contenido de ésteres poliinsaturados con un coeficiente de correlación del 91%.
6. El punto de obstrucción de filtros en frío (CFPP) está influido también por el número de insaturaciones, pero la longitud de la cadena hidrocarbonada de los ésteres saturados es un factor determinante. Esta propiedad se relacionó directamente con el contenido en ácidos grasos saturados de cadena corta (de 16 a 24 átomos de carbono) con un coeficiente de correlación del 95%.
7. Se ha realizado un diseño de experimentos para la esterificación ácida homogénea de los ácidos grasos libres de aceite de salmón. Este aceite fue recuperado como subproducto en una planta de procesamiento de pescado en Noruega. Las variables objeto de estudio fueron la temperatura (T), relación molar metanol-aceite (MR) y el tiempo de reacción (t), y la variable respuesta fue la conversión de ácidos grasos. El diseño de experimentos permitió establecer

diferentes combinaciones de las variables para obtener las condiciones óptimas que dieran lugar a una conversión aceptable de ácidos grasos.

8. El diseño de experimentos es una metodología que exige el conocimiento del proceso tanto para la elección de factores, niveles y rango, como para la interpretación de los resultados obtenidos.

9. Se aplicó un modelo cinético de 4 etapas consecutivas y se consideró como etapa determinante la reacción del alcohol nucleófilo con el sustrato carbonilo protonado. Se obtuvo un modelo con 8 parámetros independientes que describieron con elevada precisión los resultados experimentales de 27 experimentos, con un coeficiente de regresión del 91%.

10. El aceite de salmón se sometió a esterificación y transesterificación para obtener los ésteres metílicos correspondientes. De las propiedades analizadas, destaca la baja estabilidad a la oxidación (0.91-0.95 h), debido a la presencia de ésteres poliinsaturados. Estos ésteres también proporcionan buenas propiedades en frío si se compara con ésteres obtenidos a partir de otros aceites y grasas animales o vegetales (CFPP de -7°C).

CONCLUSIONS

1. When citric acid was used to purify the methyl ester phase, the volume required to remove impurities was almost halved if compared to purification with distilled water. The addition of citric acid resulted in higher oxidative stability of biodiesel, measured as induction period (IP).

2. The induction period increments were dependent on the raw material used to biodiesel production: values increased with increasing saturated fatty acid content.

3. Among the commercial additives tested, propyl gallate was identified as the most effective in delaying the oxidation of both fresh (close to the time it was produced) and aged (after 6 months of storage) biodiesel samples.

4. Citric acid washed was also effective in delaying oxidation of stored samples. However, there was no consistent pattern of effectiveness when the induction period of aged samples with antioxidants (with 1000 ppm) were measured. Even though, most of the samples washed with citric acid did show higher IP values compared to water washed samples.

5. Oxidative stability can be directly related to the polyunsaturated fatty acid content with an adjusted coefficient of determination of 91%.

6. Cold filter plugging point (CFPP) of biodiesel is also influenced by the carbon chain length of saturated fatty acids. This value can also be correlated with the long chain saturated fatty acids content (from C16:0 to C24:0) with an adjusted coefficient of determination of 95%.

7. Salmon oil esterification was carried out via homogeneous acid-catalyzed methanolysis, using sulfuric acid as catalyst. Factorial design and response surface methodology (RSM) were used to optimise the esterification process, measured as free fatty acid conversion. The influence of temperature (T), methanol to oil molar ratio (MR) and reaction time (t) was analysed. RSM provided wide information minimizing the number of experiments. Some combinations of the studied variables were obtained in order to ensure an acceptable value of acidity, while minimizing the inputs (methanol) or operation conditions (temperature and reaction time) which lead to a more sustainable and economic process.

8. Experimental design and RSM are useful tools that provide reasonable quantity of information and do not require a large number of runs. But in some situations, the response

cannot be accommodated by polynomial models; therefore, process knowledge is always required to consider factors, levels and range, as well as to interpret the results.

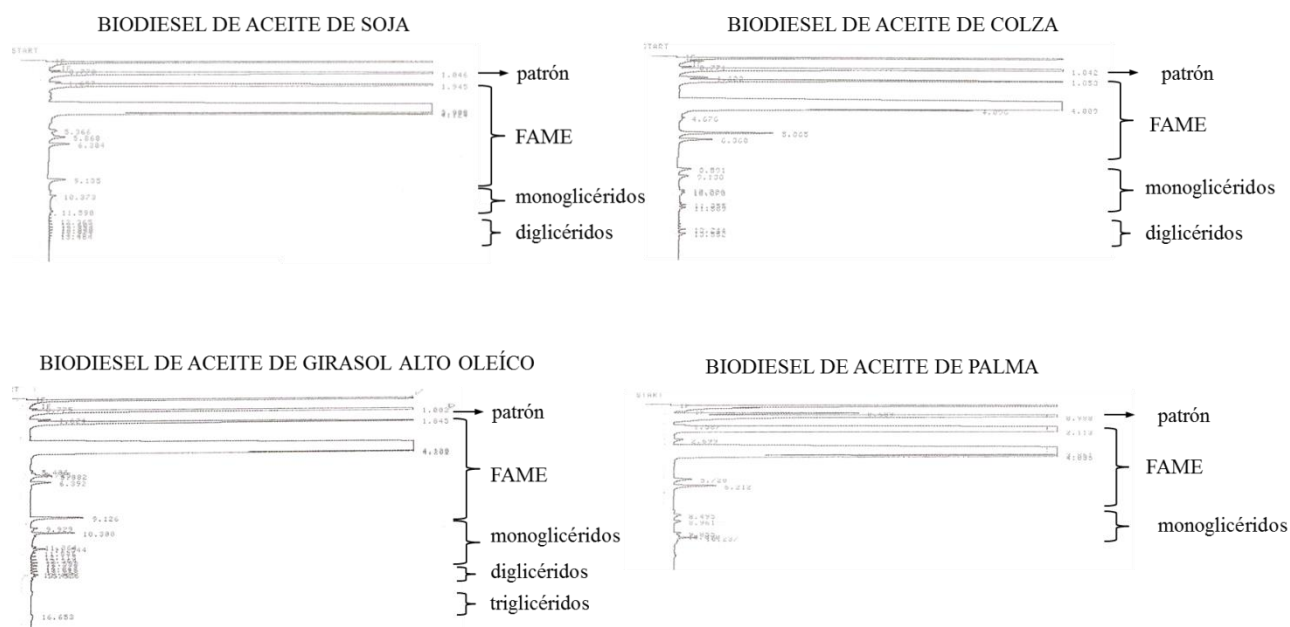
9. A reaction mechanism with four consecutive reactions was considered and the attack of the nucleophile alcohol to the protonated carbonyl substrate was corroborated to be the rate-determining step, in accordance with previous studies in free fatty acids esterification. A kinetic model with 8 independent parameters described with high accuracy the experimental data of 27 reactions with a regression coefficient of 91%.

10. Pre-esterified salmon oil was submitted to transesterification and properties of resulting methyl esters were measured. Compared to other animal and vegetable sources, salmon oil led to methyl esters with better performance at low temperatures (CFPP of -7°C). Induction period measured was 0.95 h, probably due to the high content in polyunsaturated fatty acids of salmon oil.

IX. ANEXOS

➤ ANEXO I

En este anexo se muestran algunos de los cromatogramas resultantes del análisis de 4 muestras de biodiesel. Se incluyen como ejemplo del cálculo de concentración de ésteres metílicos. Se realizó el cálculo considerando que los monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos presentaban una respuesta similar entre sí, sin importar si se trataba de monoleína o monopalmitina (igualmente para el caso de dioleína-dipalmitina y trioleína-tripalmitina).



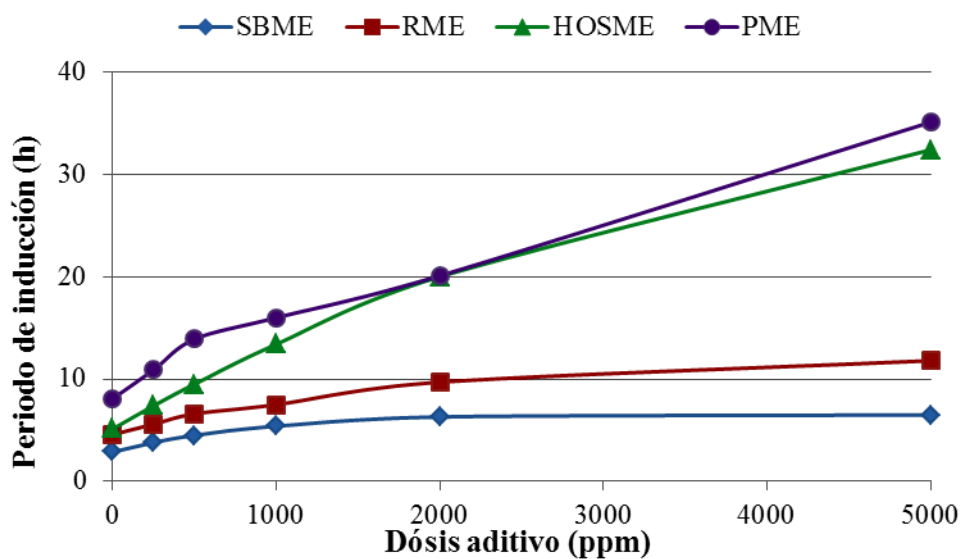
BIODIESEL	Soja	Colza	Girasol Alto Oleíco	Palma
masa muestra (g)	0.0045	0.0052	0.0056	0.0040
masa patrón (g)	0.0009	0.009	0.0008	0.0008
Área patrón	1379812	1316778	1004768	1644066
Área monoglicéridos	9709	12630	41616	18752
% (m/m) monoglicéridos	0.24	0.29	1.03	0.40
Área diglicéridos	3424	7319	4379	-
% (m/m) diglicéridos	0.30	0.58	0.38	-
Área triglicéridos	-	-	6507	-
% (m/m) triglicéridos	-	-	0.74	-

➤ ANEXO II

A continuación se muestran los resultados obtenidos con un aditivo antioxidante comercial cuyo principal compuesto es el 4-(2-metilprop-2-enil) fenol. Las sustituciones alquilo tienen lugar en la posición *para*, tomando como referencia el grupo hidroxilo.

ADITIVO FENÓLICO

Lavado con agua destilada



FACTOR DE MEJORA = IP/IP_0					
Materia prima	Concentración aditivo (ppm)				
	250	500	1000	2000	5000
SBME	1.3	1.6	1.9	2.2	2.3
RME	1.2	1.4	1.6	2.1	2.6
HOSME	1.4	1.9	2.6	3.9	6.3
PME	1.3	1.7	2.0	2.5	4.3

➤ ANEXO III

Obtención del modelo de primer orden: planificación de experimentos

Las variables de operación escogidas y sus respectivos niveles se muestran en la siguiente tabla

Variable y nivel	-1	0	+1
T: Temperatura (K)	314	323	332
RM: relación molar methanol:aceite	3:1	6:1	9:1
t: tiempo de reacción (min)	60	90	120

Se realizó un diseño factorial 2^k , siendo 2 el número de niveles (-1 y +1) y k el número de factores o variables escogidas, en este caso 3. Por tanto, el diseño factorial requiso de 8 experimentos, y se realizaron 4 réplicas en el punto central para calcular el error. Se muestra a continuación la matriz de experimentos y los resultados obtenidos para cada uno de ellos.

Experimento	X _T	X _{MR}	X _t	T (K)	MR	t (min)	Conversión FFA (%)
1	1	-1	-1	332	3	60	81.70
2	1	-1	1	332	3	120	88.44
3	0	0	0	323	6	90	86.27
4	1	1	-1	332	9	60	90.65
5	-1	-1	1	314	3	120	62.33
6	-1	1	-1	314	9	60	89.13
7	0	0	0	323	6	90	88.11
8	-1	1	1	314	9	120	90.73
9	0	0	0	323	6	90	88.50
10	1	1	1	332	9	120	91.69
11	-1	-1	-1	314	3	60	45.64
12	0	0	0	323	6	90	86.05

A partir de los resultados obtenidos, se calcularon los efectos de cada variable y sus interacciones. Estos efectos se calculan como la media obtenida en la respuesta al variar un determinado factor entre su nivel superior e inferior, de manera:

$$I_x = \frac{\sum Y_{x(+)} - \sum Y_{x(-)}}{N/2}$$

Donde $Y_{x(+)}$ e $Y_{x(-)}$ denotan la suma de las respuestas obtenidas cuando el factor x se encuentra en el nivel superior e inferior, respectivamente, y N es el número de experimentos del diseño factorial, en este caso 8.

<i>Valor medio del diseño factorial</i>	$\bar{y} = 80.04$
<i>Efectos principales e interacciones</i>	$I_T = 16.16$
	$I_{MR} = 21.02$
	$I_t = 6.51$
	$I_{TMR} = -14.93$
	$I_{Tt} = -2.63$
	$I_{MRt} = -5.20$
	$I_{TtMR} = -2.35$

Para calcular qué variables e interacciones son influyentes en la respuesta, se calcula el intervalo de confianza, definido como:

$$IC = \pm \frac{t \cdot s}{n^{1/2}}$$

Donde t es el valor de la t de Student, correspondiente a un nivel de confianza dado (en este caso del 95%) y a los n-1 grados de libertad, s es la desviación estándar calculada a partir de los resultados en el punto central, y n es el número de experimentos realizados en el punto central.

En este caso, la desviación estándar calculada a partir de las réplicas en el punto central es de **1.255**, el valor de la t de Student es **3.182**, y se obtiene un intervalo de confianza de \pm **1.997**. Puesto que el efecto de todas las respuestas es superior a este intervalo, se puede concluir que todas son significativas.

Cuando un sistema es no lineal, aparece el llamado “efecto de curvatura”, que se define como la diferencia entre el promedio de la respuesta obtenida en las réplicas del punto central del diseño y el valor promedio de las respuestas de los experimentos factoriales.

$$c = Y_m - Y$$

$$Y_m = \sum_{i=1}^n \frac{Y_{mi}}{n}$$

$$Y = \sum_{i=1}^N \frac{Y_i}{N}$$

En el caso del presente estudio se obtuvo:

$$c = 87.23 - 80.04 = 7.2$$

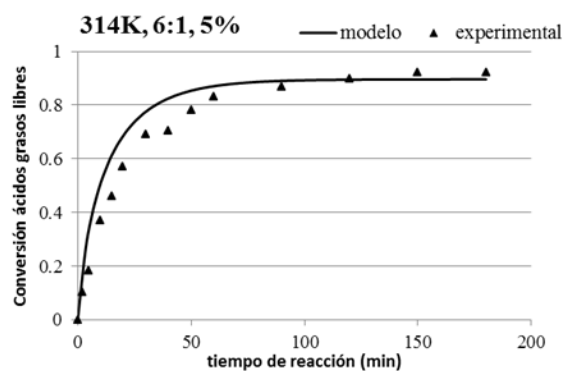
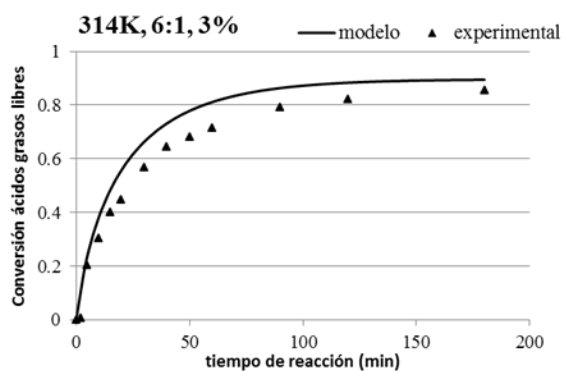
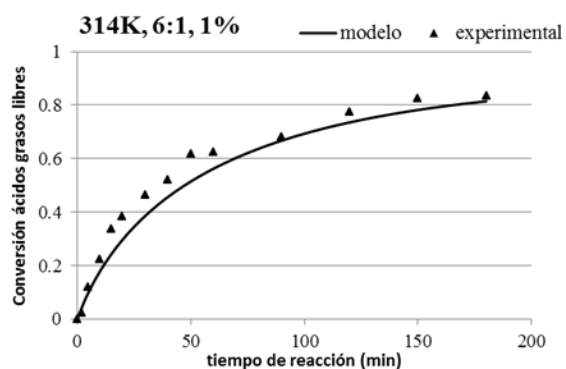
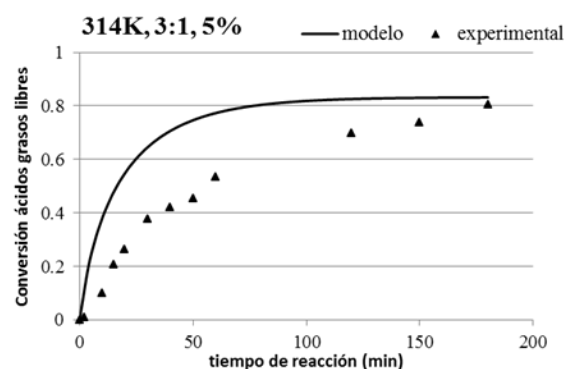
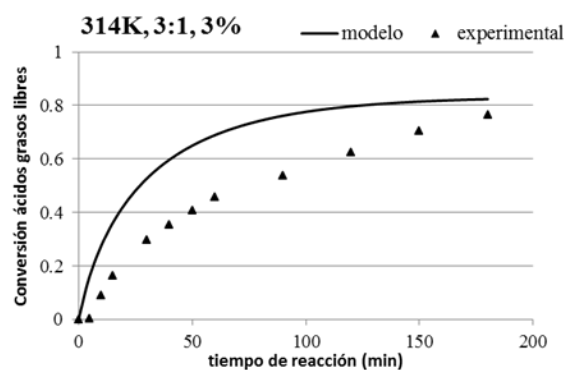
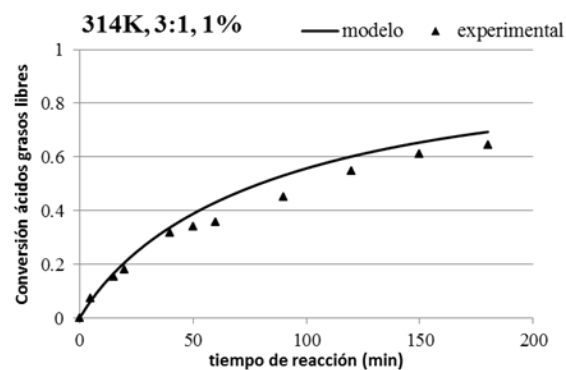
El intervalo de confianza se calcula de la siguiente manera:

$$IC = \pm t \cdot s \cdot \left(\frac{1}{N} + \frac{1}{n} \right)^{1/2}$$

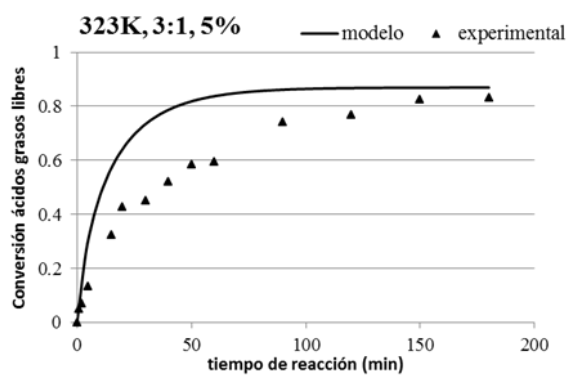
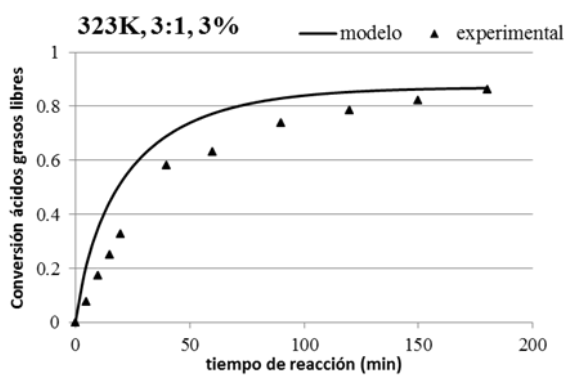
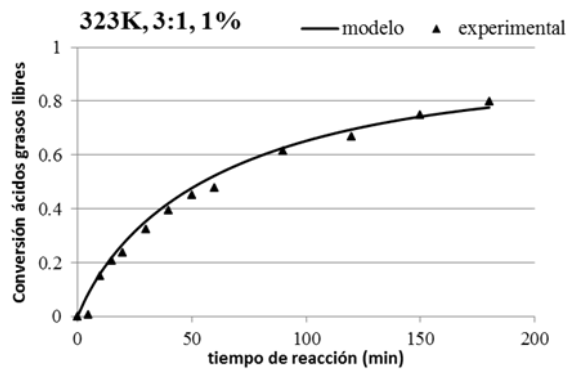
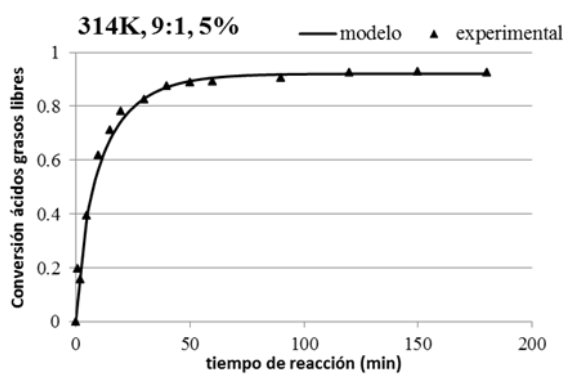
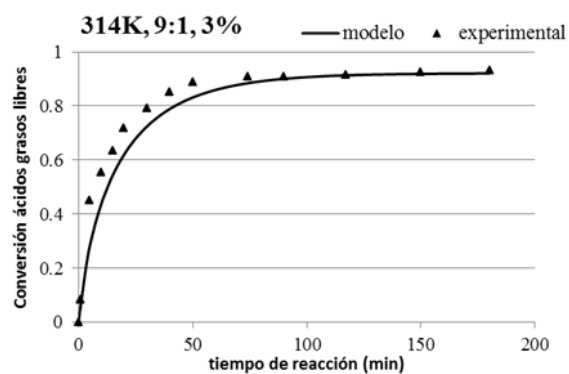
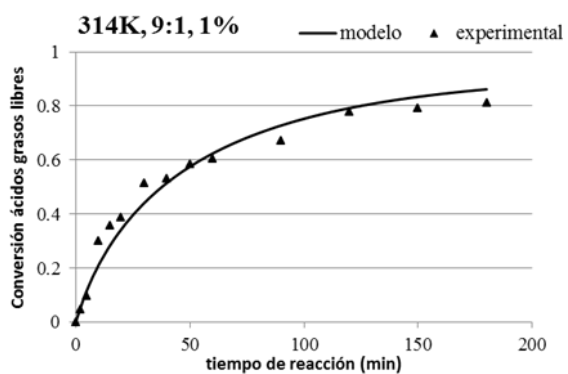
En este caso, resultó un IC para la curvatura de ± 2.45 . Puesto que el efecto de curvatura obtenida, c , es mayor que este intervalo, pudo corroborarse que existía curvatura significativa, de manera que se procedió a ampliar el experimento para obtener un modelo de ajuste de segundo orden.

➤ ANEXO IV

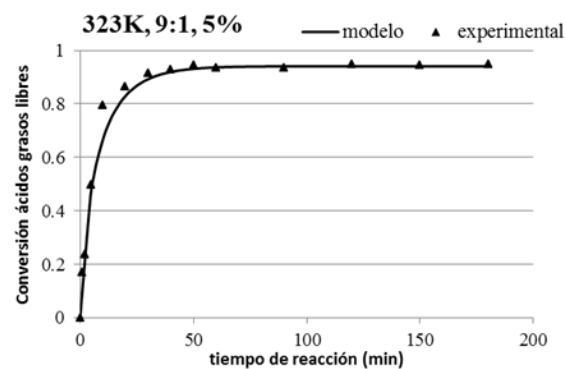
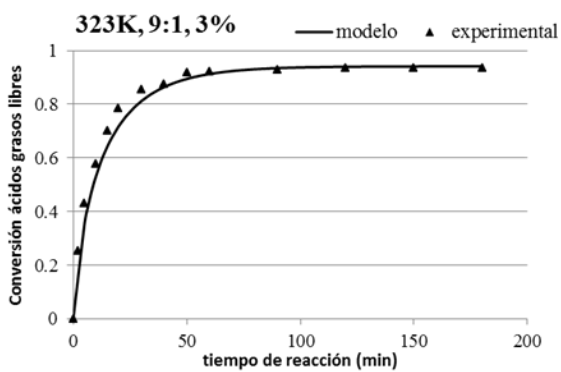
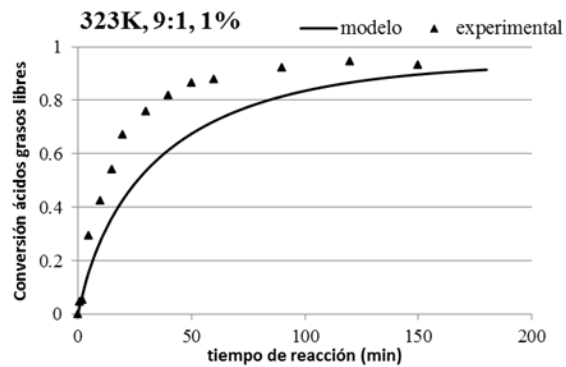
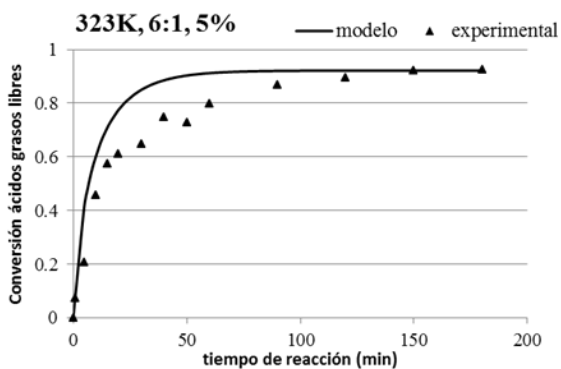
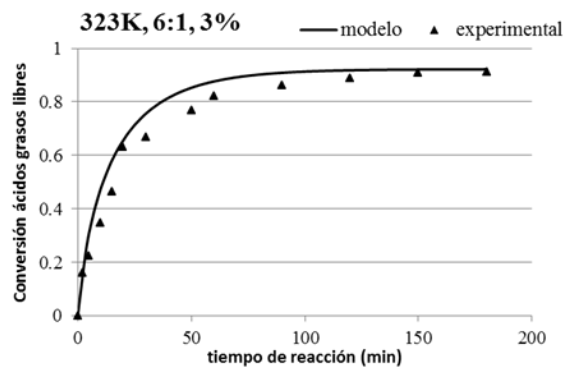
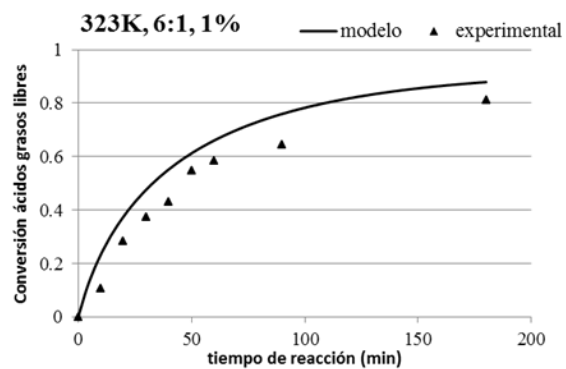
Validación del modelo cinético obtenido en el apartado 7.2.



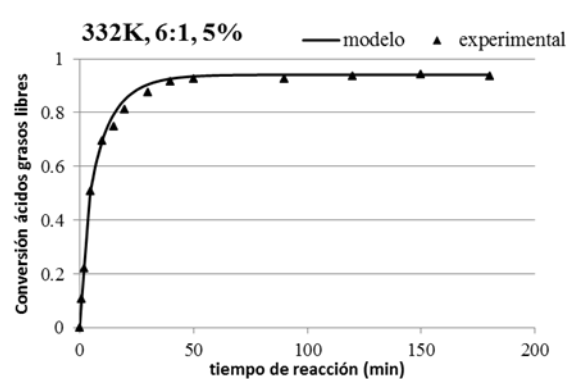
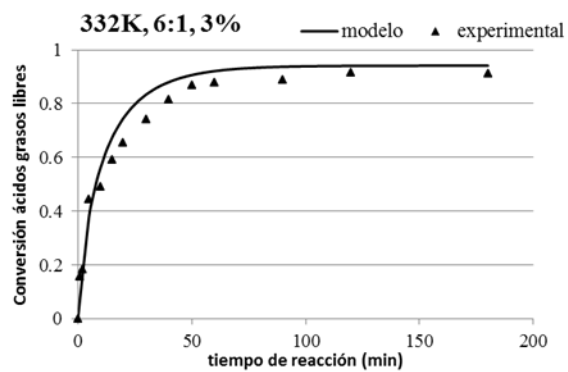
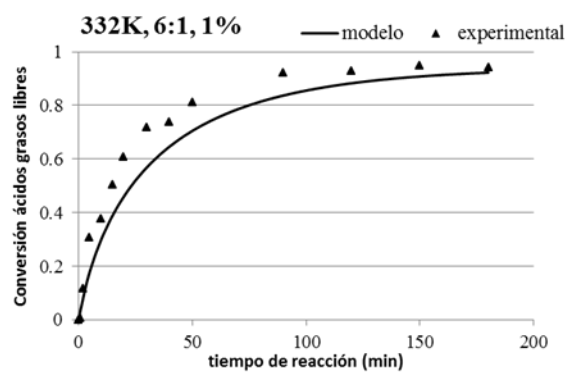
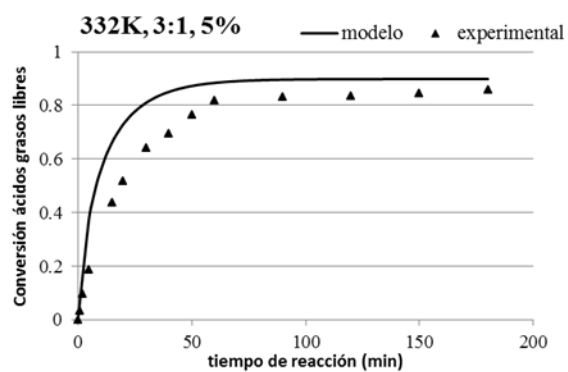
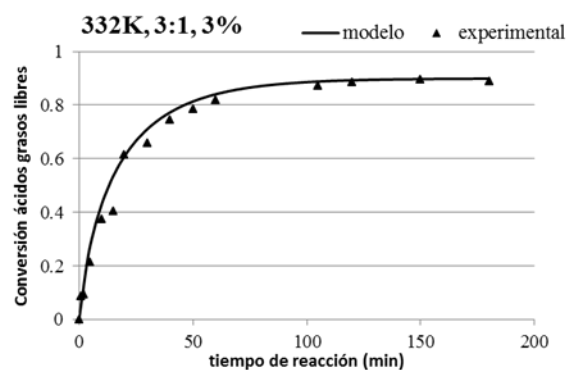
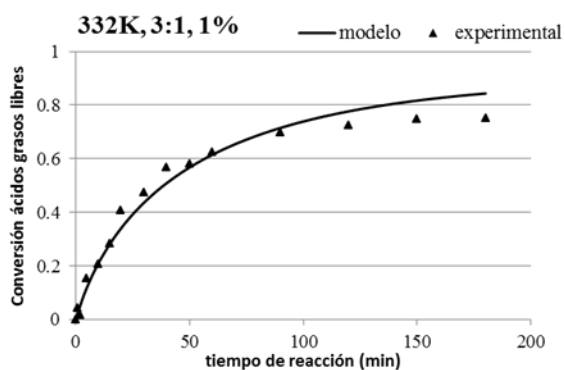
➤ ANEXO IV (cont.)



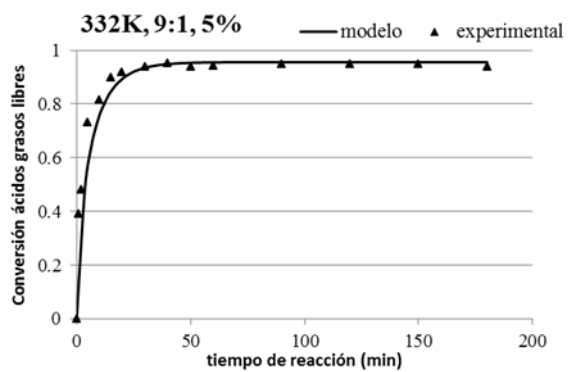
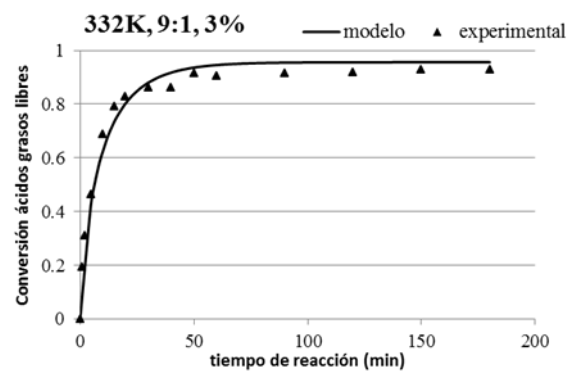
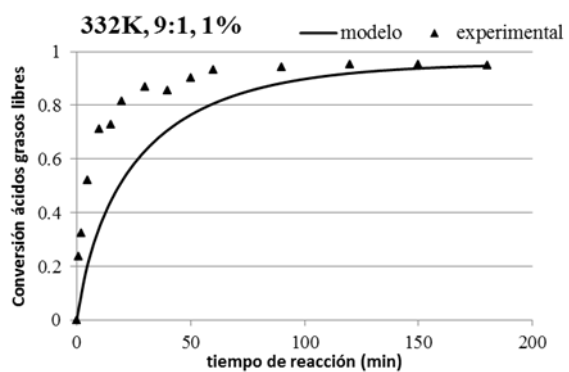
➤ ANEXO IV (cont.)



➤ ANEXO IV (cont.)

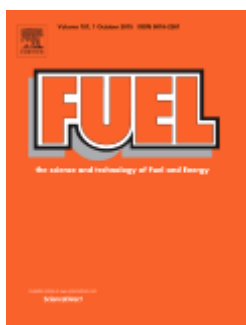


➤ **ANEXO IV (cont.)**



➤ ANEXO V

ARTÍCULOS PUBLICADOS RELACIONADOS CON EL PRESENTE TRABAJO



Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks:

Influence of commercial additives and purification step.

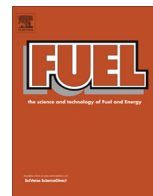
M. Serrano, A. Bouaid, M. Martínez, J. Aracil.

Fuel 2013 (113) 50-58.

Factor de Impacto (2013): 3.406

Factor de Impacto 5 años (2013): 4.186

Citaciones: 19



Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: Influence of commercial additives and purification step



Marta Serrano, Abderrahim Bouaid, Mercedes Martínez, José Aracil *

Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemistry, Complutense University, 28040 Madrid, Spain

HIGHLIGHTS

- Influence of raw material on oxidative stability of biodiesel is tested.
- Commercial antioxidants are used and their effectiveness is compared.
- Two different washing agents in methyl ester purification processes were used: distilled water and a citric acid solution.
- Citric acid enhances the oxidative stability of methyl ester and retards oxidation in presence of copper.
- Correlations can help to predict oxidative stability of methyl ester samples.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 October 2012

Received in revised form 22 May 2013

Accepted 23 May 2013

Available online 6 June 2013

Keywords:

Biodiesel

Antioxidants

Oxidative stability

Rancimat method

Citric acid

ABSTRACT

The present study investigates the effectiveness of three commercial synthetic (AO1, AO2 and AO3) and one natural (AO4) antioxidants to improve the oxidation stability of various biodiesel fuels produced from different vegetable oils: soybean methyl ester (SBME), rapeseed methyl ester (RME), high oleic sunflower methyl ester (HOSME) and palm methyl ester (PME) and prepared by two different purification steps, using distilled water and acidified distilled water (0.1 M citric acid solution) wash methods. The results of this study have shown that different biodiesel samples have different levels of oxidative stability. Antioxidants can improve the oxidation stability and the antioxidant effect increases as a function of its concentration.

This study showed that the use of citric acid (0.1 M) instead of distilled water in the purification step improved the oxidative stability of biodiesel from different feedstocks, and the washing agent volume required resulted reduced.

Results obtained were fitted to an equation in order to predict the minimum antioxidant dosage to meet EN 14214.

The information generated in this study could be used to better understand the oxidation stability and its effect on the quality of pure biodiesel.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The need to replace fossil fuels as a source of energy is a problem that is becoming even more patent through the years. In addition to the limited stock and the environmental issues associated with fossil fuels, price rising and the problems derived from the foreign energetic dependence are gaining weight in these last years. In this context, biodiesel is one of the most promising alternatives, not only for its low emissions and renewable properties but also for the wide range of raw materials from different origin that can be used for its production [1].

Chemically, biodiesel is fatty acid methyl or ethyl esters and they are called biodiesel only when used as fuel in diesel engines and heating systems [2]. The transesterification process combines

the oil with an alcohol in the presence of suitable catalysts; the alcohol employed in the transesterification is generally methanol. Biodiesel is commonly made with methanol and vegetable oils.

In order to ensure customer's acceptance, standardization and quality assurance are key factors for the market introduction of biodiesel as fuel for transport and heating. One of the major problems associated with the use of biodiesel as supply for diesel engines is poor oxidative stability. The problems arising from the deterioration of the fuel properties of biodiesel during storage are expected to be more severe than for commercial diesel fuel. Resistance to oxidative degradation during storage is an increasingly important issue for the successful development and viability of alternative fuels.

Fatty acid methyl ester (FAME) is more prone to oxidation than typical petroleum diesel unless it is treated with antioxidants. The oxidation mechanism of FAME is generally well understood [3]. Fatty acid alkyl chains have varying numbers of double bonds.

* Corresponding author. Tel.: +34 91 394 4167.

E-mail address: jam1@quim.ucm.es (J. Aracil).

Nomenclature

A	parameter (h), in Eqs. (1) and (2)	HOSME	high oleic sunflower methyl ester
AO1	Antioxidant 1 hindered phenol based antioxidant	IP	induction period (h)
AO2	Antioxidant 2 hindered phenol/amine based antioxidant	IP ₀	induction period of sample without antioxidant added (h)
AO3	Antioxidant 3 propyl gallate based antioxidant	PME	palm methyl ester
AO4	Antioxidant 4 mixed tocopherols based antioxidant	RME	rapeseed methyl ester
B	parameter (ppm), in Eq. (1)	SBME	soybean methyl ester
C _{AO}	antioxidant concentration (ppm)		
FAME	fatty acid methyl ester		

Generally, the rate of oxidation of fatty acids alkyl esters depends on the number of double bonds and their position on the chain. Common FAME such as soybean, rapeseed, sunflower and palm oils based methyl ester are primarily composed by carbon chains with 16–18 carbon atoms and zero to three unsaturations. For C18 carbon chains, oleic acid contains one double bond, two for linoleic and three for linolenic acid.

Oxidation of unsaturated esters in biodiesel occurs by contact with air and other pro-oxidizing conditions during storage period. Thus, oxidative stability is an important issue that biodiesel research must address since oxidation product may impair fuel quality and, subsequently, engine performance.

The need to obtain a product which is stable against oxidation both during its use and storage, has led to make different approaches. The election of the best raw material cannot always been done, due to economic reasons. The use of additives can improve the oxidation stability, in order to satisfy the corresponding standard, which is established by the EN 14214 in Europe (with a minimum induction period requirement of 6 h) and by ASTM 6751 in United States (where an induction period of 3 h is required).

Sterically hindered phenols and secondary aromatic amines are considered *primary* or free radical scavenging antioxidants that inhibit the oxidation via chain termination reactions. They contain one or more highly labile hydrogen (OH or NH group) that can be removed by a peroxy radical more easily than one's from fatty oil ester. The resulting antioxidant radical (phenolic or aminic) is very stable and leads to stable molecules without removing a proton from the fatty acid chain.

Tocopherols and flavonoids are natural substances that occur as minor constituents in vegetable oils but they are removed during the refining process. They are also classified as primary antioxidants. Tocopherol content and profile depends on the raw material (botanical source, climatic and geographical factors) and processing procedure, including storage time and conditions.

Secondary antioxidants do not convert free radicals into stable molecules, as primary antioxidants do. They act by binding metal ions, scavenging oxygen, decomposing hydroperoxydes to nonradical species, etc.

The use of natural and synthetic antioxidants to retard the oxidative degradation of lipids, such as edible oils and biodiesel has been subject to evaluation on numerous occasions [4–8]. Commercial antioxidants are a combination of different substances. Usually a secondary antioxidant is mixed with a primary antioxidant, in order to enhance the antioxidant activity. The recommended concentration depends on the raw material used, based on its fatty acid profile and its antioxidant substances content. Antioxidants will not improve the quality of a deteriorated lipid system, so they have to be added at an early stage of the processing.

One of the most commonly used methods for purifying biodiesel is to wash out the impurities with water. Other effective, though archaic, ways to wash biodiesel are agitation, mist and bubble washing. Water has a very low affinity for biodiesel and absorbs excess alcohol, catalyst and soap suspended in the fuel.

After the biodiesel is washed, it has to be dried. This is usually done via vacuum flash drying with an evaporator, or it can dry when left in settling tanks. Spent process water can be pretreated for evaporation or sent to a distillation column to be recycled in the process.

But water washing has its drawbacks. It is a time-consuming step that requires many hours for the biodiesel and water to completely separate. And, since virtually all biodiesel processes use a homogeneous catalyst like sodium or potassium methoxide, the presence of soap can create emulsification problems, which impair the separation of the water and biodiesel during the wash.

The water used in the methyl ester washing process can be slightly acidified with H₂SO₄ or HCl. As an alternative of biodiesel washing stage, in the current study a 0.1 M citric acid solution was used as washing agent.

Citric acid (2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid) is found as a constituent of a variety of citrus fruits. Nowadays, most citric acid is obtained by fungal fermentation [9] and has a variety of applications [10]. Due to its solubility in lipids and its innocuous nature, it is used as preventive antioxidant in foods [7]. It is added to edible oil after deodorization in order to enhance superior stability against oxidation. Several studies have evaluated synergetic effects of mixing citric acid with other antioxidant substances, especially with primary antioxidants [11]. Consequently, the addition of citric acid to biodiesel during its production is expected to result in an increment of oxidative stability. Citric acid can also chelate metal ions by forming bonds between the metal and the carboxyl or hydroxyl groups of the citric acid molecule [12]. Traces of metal can catalyze the autooxidation of oil and consequently, methyl esters. Knothe and Dunn measured the decrease of *Oil Stability Index (OSI)* at 90 °C of methyl oleate in the presence of metals, by concluding that copper has the strongest effect of three metal investigated [13]. Sarin et al. and Santos et al. also tested the oxidative stability of contaminated Jatropha and soybean biodiesel, respectively. Among the tested metals, copper has the most negative effect in induction period of the samples [14,15].

The aim of this study is to evaluate the effectiveness of a series of synthetic and natural commercial antioxidants in biodiesel prepared from different feedstocks, by means of Rancimat method according to European Standard EN 14214. Biodiesel was obtained by using two different washing agents: distilled water and a citric acid solution. Results of neat and samples with additives were compared.

Finally, ability of citric acid in delaying biodiesel oxidation in presence of copper has also been tested.

2. Experimental

2.1. Materials

Soybean, rapeseed, high oleic sunflower and palm oils were supplied by Gracomsa Alimentaria (Valencia, Spain). The fatty acids composition and physicochemical properties of the oils are

Table 1

Fatty acid composition (wt%) and properties of vegetable oils.

Fatty acid (wt%)		Vegetable oil			
		Soybean	Rapeseed	High oleic sunflower	Palm
Myristic	C14:0	0.3	0.1	0.0	2.5
Palmitic	C16:0	10.9	5.1	3.5	40.8
Palmitoleic	C16:1	0.0	0.0	0.1	0.0
Stearic	C18:0	3.2	2.1	3.1	3.6
Oleic	C18:1	24.0	57.9	82.7	45.2
Linoleic	C18:2	54.5	24.7	9.0	7.9
Linolenic	C18:3	6.8	7.9	0.1	0.0
Arachidic	C20:0	0.1	0.2	0.3	0.0
Gadoleic	C20:1	0.0	1.0	0.3	0.0
Behenic	C22:0	0.0	0.0	0.8	0.0
Erucic	C22:1	0.0	0.2	0.0	0.0
Lignoceric	C24:0	0.0	0.0	0.2	0.0
Saturated		14.5	7.5	7.9	46.9
Monounsaturated		24	59.1	83.1	45.2
Polyunsaturated (2,3)		61.3	32.6	9.1	7.9
<i>Properties</i>					
Acid number (g KOH/g)		0.18	0.17	0.24	0.17
Iodine number (gI ₂ /100 g)		134	104	91	56
Peroxide number (meq/kg)		1.1	2.98	2.5	4.1
Water content (mg/kg)		0.01	0.01	0.02	0.01
Induction period (h)		7.0	9.2	10.0	25.8

summarized in Table 1. Methanol, of 99.8% purity was supplied by Cor Química (Spain). The catalyst used was potassium methoxide, 32% purity purchased from BASF Ibérica (Spain). Citric acid was supplied by Sigma Aldrich (Spain).

The influence of three synthetic antioxidants and one natural antioxidant obtained from various commercial sources, were tested in biodiesel samples. These additives are mixtures of different compounds. In order to describe and interpret the experimental results, their respective main substance will be used as reference component. Table 2 summarizes the composition and properties of the antioxidants used in this work.

- AO1: hindered phenol based antioxidant. It is mainly composed by an hindered phenol, 2,6-di-tert-butylphenol, with one hydroxyl group. 2,6-DTBP is used both as antioxidant and as starting material in the production of other phenolic antioxi-

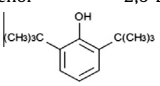
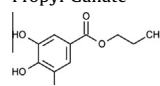
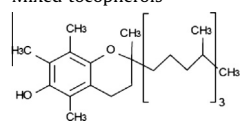
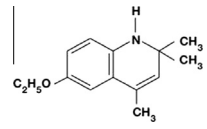
dants. Other compounds considered hindered phenols are widely used in food. Their effectiveness in biodiesel have been tested by several authors [4,16,17] normally as BHT, BHA (both monophenolic compounds) or TBHQ (diphenolic compound).

- AO2: hindered phenol/amine based antioxidant, is composed by an hindered phenol, 2,6-DTBP and an amine derived, ethoxyquin (6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline). It is considered a good antioxidant because some of its oxidation products also have antioxidant properties. Focke et al. tested several synthetic commercial antioxidants in canola and sunflower oil based biodiesel; the antioxidant based in an amine compound (with similar structure to ethoxyquin) was more effective compared to phenolic based antioxidant [18].

The combination hindered phenol/amine is also used as light stabilizer for polymers [19].

Table 2

Composition and properties of commercial additives used in the study.

	AO1	AO2	AO3	AO4
	Hindered phenol	Hindered phenol/amine	Propyl gallate	Mixed tocopherols
<i>Main component</i>	2,6-Di-tert-butylphenol 	2,6-Di-tert-butylphenol	Propyl Gallate 	Mixed tocopherols 
<i>Other components</i>	Mixed phenols	Ethoxyquin 	Ascorbyl palmitate Citric acid derivatives	Propyl gallate Ascorbyl palmitate Citric acid derivatives
<i>Properties</i>				
Density 20 °C (g/l)	0.93–0.95	1.03	N/S	N/S
Viscosity 25 °C (MPa s)	19	1800	N/S	N/S
Boiling point (°C)	224–264	224–264	N/S	N/S

N/S: not specified.

- AO3: propyl gallate based antioxidant. Main component in AO3 is propyl gallate (3,4,5-trihydroxybenzoate). It is a white crystalline powder very slightly soluble in water. Other esters from gallic acid such as octyl and dodecyl gallates can be used to enhance the solubility in lipids. Gallates act as primary antioxidants by scavenging free radicals. AO3 also contains ascorbyl palmitate, which is a synthetic derivative of ascorbic acid used as secondary antioxidant very soluble in lipid substances.
- AO4: mixed tocopherol based antioxidant. Tocopherols are phenolic compounds obtained from vegetable oils, very efficient in lipid systems where they act as a radical scavenger. Pro-oxidant effect of α -tocopherol is observed in the presence of iron or copper salts [20]. Other compounds present in AO4 are propyl gallate and ascorbyl palmitate.

Three increasing AO concentrations, 250, 500 and 1000 ppm were added to different methyl esters obtained (SBME, RME, HOSME and PME). Samples were subjected to accelerated oxidation in the Rancimat equipment.

2.2. Equipment

Experiments were carried out in a stirred batch reactor of 500 cm³ volume. This reactor was provided with temperature and speed control, and immersed in a thermostatic bath capable of maintaining the reaction temperature to within ± 0.1 °C by means of an electrical device connected to a PID controller. The impeller speed between 500 and 1200 rpm were tested; a stirring speed of 600 rpm was found appropriate to avoid the mass transfer limitation [21].

2.3. Procedure

Fatty acid methyl esters produced from different oils were used in this study: soybean methyl ester (SBME), rapeseed methyl ester (RME), high oleic sunflower methyl ester (HOSME) and palm methyl ester (PME). The vegetable oil was added to the reactor, fitted with a reflux condenser. When the set temperature was reached, the KOCH₃ catalyst diluted in methanol was introduced in the reactor. The initial catalyst concentration was 1.5% and the alcohol/oil molar ratio 6:1. Samples were taken at regular intervals and analyzed by gas chromatography. The total reaction time was 60 min and the operation temperature 60 °C.

Once glycerine and methyl ester phases have been separated by decantation, the methyl ester phase was purified by two different methods. The first one is washing with distilled water and the second one using a slightly acidified distilled water (0.1 M citric acid solution) to remove residual catalyst, glycerol and soaps. After successive rinses the washing water became clear and its pH was 7.5. The washing process was continued until a pH of about 7 was achieved. In the same way, acidified water was used to purify methyl ester phase and compared to water washed, citric acid washed requires less quantity, which reduces the biodiesel losses.

Finally, the methyl ester phase was distilled to remove residual water and methanol. The final water content of the samples measured by Karl Fischer method was less than 0.05%.

2.4. Analytical method

Reaction products were monitored by capillary column gas chromatography, using a Hewlett–Packard 5890 series II equipped with a flame ionization detector (FID). The injection system was split–splitless. The carrier gas was helium at a flow rate of 1 mL/min. The separation program consisted of an initial oven temperature of 110 °C was increased at 4 °C/min to 160 °C for 1 min followed by a ramp of 30 °C/min to 320 °C and maintained for 20 min to complete the program. The other analysis operating conditions have been described in detail by Vicente et al. [22], in a previous work. The internal standard technique has been used in order to quantify the amount of the chemical species. Samples were also analyzed according to the following procedures: acid value AV (UNE-EN 14104), peroxide value PV (EN-ISO 3960), iodine value IV (UNE-EN 14111), moisture content by Karl Fischer method (EN 12937), viscosity η (EN-ISO 3104) and oxidation stability (EN-14112). The oxidation stability of methyl esters were analyzed according to Rancimat method using Metrohm 743 Rancimat equipment (Herisau, Switzerland). Three grams of sample were placed in the heating block at 110 °C; the air flow rate was 10 l/h and volatile products were discharge in a flask containing 50 mL of distilled water where conductivity changes were measured. The time corresponding to the inflection point in the oxidation curve is the Induction Period (IP). Each sample was run in duplicate.

3. Results

Table 3 presents the methyl ester samples tested in this study. The effects of 4 commercial antioxidants (AO1, AO2, AO3 and AO4) on biodiesel oxidative stability are discussed in the following sections.

3.1. Oxidative stability of neat samples

The induction time of neat samples, which means without any commercial antioxidant added, were related to the fatty acid composition of raw materials. As can be seen in Table 4, the SBME sample is less stable against free radical attack (IP value of 2.9 h). Fatty oils that contain more double bonds are more prone to suffer oxidation. The question lies in the type of unsaturations; soybean oil has less percentage of total unsaturated fats (85.3%) than rapeseed (91.7%) or high oleic sunflower oil (92.2%), however its composition in linoleic (54.5%) and linolenic acids (6.8%) is higher, being polyunsaturated fats less stable against free radical attack.

The increasing IP sequence RME (4.6 h) < HOSME (5.1 h), also accords with the fatty acid profile of the raw materials. The saturated/unsaturated distribution in rapeseed and high oleic sunflower oil is almost the same (8.1:91.7 and 7.9:92.2,

Table 3
Fatty acid methyl ester samples tested in this study.

FAME	Additive: main component and concentrations tested (ppm)			
	AO1 Hindered phenol	AO2 Hindered phenol/amine	AO3 Propyl gallate	AO4 Mixed tocopherols
SBME (water washed and citric acid washed)	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000
RME (water washed and citric acid washed)	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000
HOSME (water washed and citric acid washed)	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000
PME (water washed and citric acid washed)	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000	250–500–1000–2000–5000

Table 4
Properties of methyl esters obtained from vegetable oils and limits fixed by European Standard EN 14214. Operation conditions: catalyst concentration 1.5%, methanol/oil molar ratio 6:1 and operation temperature 60 °C. Methyl ester phase purified with distilled water or citric acid solution (0.1 M).

Property	Washing agent	Limits		SBME	RME	HOSME	PME
		Min	Max				
Ester content (wt%)	Water	96.5		>97	>97	>97	>97
	Citric acid			>97	>97	>97	>97
Acid number (mgKOH/g)	Water		0.5	0.16	0.13	0.14	0.15
	Citric acid			0.34	0.18	0.21	0.20
Water content (mg/kg)	Water		500	<500	<500	<500	<500
	Citric acid			<500	<500	<500	<500
Iodine value (gI ₂ /100 g)	Water		120 ^a	130	114	87	51
	Citric acid			130	113	87	51
Peroxide number (meq/kg)	Water			4.24	2.43	3.98	1.51
	Citric acid			4.91	5.09	3.4	2.4
Induction period (h)	Water	6.0		2.9	4.6	5.1	8.1
	Citric acid			6.0	8.1	14.4	24.5
Viscosity (mm ² /s)	Water	3.5	5.0	4.8	4.7	4.8	4.9
	Citric acid			4.8	4.6	4.9	4.9

^a RD 61/2006 (Spain) Iodine value max 140 gI₂/100 g.

respectively). The polyunsaturated fraction is sensibly higher in rapeseed oil (32.6%), and consequently it presents lower oxidative stability. PME has the highest concentration in saturated fats (46.9%) and it is the only biodiesel sample that fulfils the European Standard EN 14214 (fixed above 6 h), providing the highest oxidative stability (8.1 h).

IP of the citric acid washed samples were measured by means of the same standard method. When citric acid was used to purify the methyl ester phase, the volume required to remove the impurities was almost halved if compared to purification with distilled water. As shown in Table 4, the addition of citric acid tested resulted in higher IP values. This increment is different for each sample. The IP of all the samples washed with citric acid was above the 6 h fixed as minimum by EN 14214 standard.

The increment in PME was the greatest one, from 8.1 to 25.0 h, followed by HOSME sample, whose IP was 14.4 h when citric acid is used to wash the methyl ester phase. SBME and RME showed a lower increase. Their IP measured were 6.0 and 8.1 h, respectively. The effectiveness of citric acid addition depends on the raw material used to obtain biodiesel, being HOSME and PME the more sensible due to their low degree of unsaturation.

The rest of the parameters examined, acid, iodine and peroxide values, viscosity, FAME content and profile, etc. did not show any significant alteration when citric acid was used for the methyl ester phase purification.

3.2. Oxidative stability of soybean methyl ester

The effect of all antioxidants from 250 to 1000 ppm on the Rancimat oxidation stability of the SBME distilled water and citric acid washed biodiesel samples are illustrated in Fig. 1a and b. The oxidation stability of SBME has been found to increase with increasing antioxidant dosage.

Fig. 1a shows that AO4 is consistently more effective than the other antioxidants tested in improving the Rancimat oxidation stability of SBME, with an IP \geq 6 h at 250 ppm, while AO1 and AO3 increased IP \geq 6 h at 1000 ppm. AO2 was less effective in increasing oxidation stability of SBME; the addition of 1000 ppm resulted in an IP value of 5.4 h.

For the samples washed with citric acid, AO3 was the best antioxidant for SBME, showing better results than AO4 within the range of concentrations studied (Fig. 1b). AO1 and AO2 slightly improved oxidation stability at 500 ppm and 1000 ppm. The higher

effectiveness of AO3 may be due to the main component, propyl gallate. Compared to monophenolic compounds, propyl gallate has more hydroxyl groups that act as proton donors, offering more sites for the formation of complex between free radical and antioxidant radical for the stabilization of methyl ester chain [23].

3.3. Oxidative stability of rapeseed methyl ester

In the same way, increasing concentrations of AO were added to RME. Fig. 2a shows that AO4 is slightly more effective than the other antioxidants tested for improving the Rancimat oxidation stability of RME.

Dosing of 250 ppm of AO3 and AO4, and 500 ppm of AO1 and AO2 are the minimum concentrations required to meet EN 14112 specification for biodiesel oxidative stability in the case of distilled water washed samples.

For the samples washed with citric acid (Fig. 2b), AO3 showed the greatest improvement on oxidative stability, reaching 14 h at 250 ppm and 23 h at 1000 ppm.

As it happened to SBME, AO1 addition to citric acid washed samples did not produce any marked improvement of IP value and the AO4 addition resulted in similar IP values for both samples washed with water and with citric acid.

3.4. Oxidative stability of high oleic sunflower methyl ester

The effect of all antioxidants on the Rancimat oxidation stability of the HOSME distilled water and citric acid washed samples are illustrated in Fig. 3a and b. Similarly to SBME and RME, oxidation stability of HOSME has been found to increase with increasing AO concentrations.

Sample washed with citric acid meets the EN 14112 oxidation stability limit of 6 h without using any of the antioxidants tested. The presence of antioxidants AO2, AO3 and AO4 improved the oxidation stability.

Fig. 3a shows that AO4 is more effective than the other antioxidants in improving the Rancimat oxidation stability of HOSME. While for the samples washed with citric acid, AO3 was the most efficient antioxidant, showing better results within the range of concentrations studied (Fig. 3b).

Washing with citric acid, the AO1 displayed no effect on the oxidation stability of the HOSME samples within the range of 250–

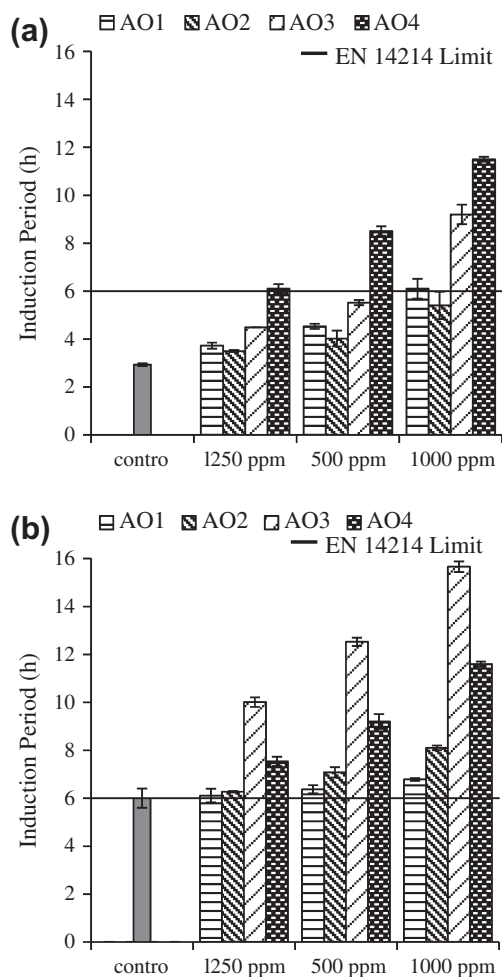


Fig. 1. Effect of additive addition to SBME washed with distilled water (a) and citric acid (b).

1000 ppm, yielding IP values that were practically identical to those of the original sample, without the addition of AO1.

3.5. Oxidative stability of palm methyl ester

The effect of all antioxidants from 250 to 1000 ppm on the Rancimat oxidation stability of the PME distilled water and citric acid washed samples are illustrated in Fig. 4a and b. The PME samples met the EN 14112 oxidation stability limit of 6 h without using any of the antioxidants tested, providing IP values of 8 and 25 h, for the samples washed with distilled water and citric acid respectively.

Fig. 4a and b shows that AO3 is more effective than the other antioxidants tested. AO1 and AO2 addition resulted in similar IP values of samples washed with water, whereas AO2 effectiveness is higher when citric acid is used to purify methyl ester phase. Beyond 250 ppm results obtained with AO4 were similar regardless of the purification process.

3.6. Correlation for oxidative stability

All the antioxidants resulted effective in increasing IP value of methyl ester. However, required concentrations to exceed 6 h varied as a function of AO added, feedstock used for methyl ester production and washing agent used in the purification process.

In order to determine the minimum AO dosage to fulfill the European Standard EN 14214, and based on experimental results,

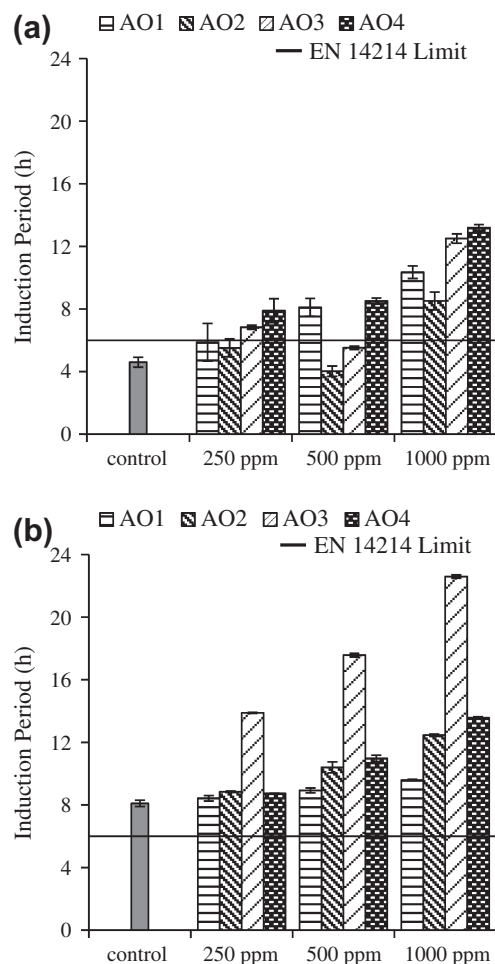


Fig. 2. Effect of additive addition to RME washed with distilled water (a) and citric acid (b).

correlations were obtained for assessing the oxidation stability in terms of IP as a function of antioxidant concentration. Additive concentrations of 2000 and 5000 ppm were tested for all biodiesel samples. The evolution of the induction period with increasing antioxidant dosage shows a firstly phase of lineal increase followed by a stabilization period, characterized by an asymptotic response or a marked reduction in the slope. According to this, induction period can be expressed by an exponential equation Eq. (1):

$$IP = IP_0 + A(1 - \exp(-C_{AO}/B)) \quad (1)$$

In a few cases, data could not be appropriately fitted by this equation, so the following lineal equation was used:

$$IP = IP_0 + AC_{AO} \quad (2)$$

where IP is the induction period in hours measured of sample with antioxidant, IP_0 is the induction period of sample without antioxidant added, C_{AO} is the antioxidant concentration added in ppm, and A and B are parameters obtained from the fitting process, expressed in hours and ppm, respectively. Table 5 resumes the correlations obtained for each biodiesel feedstock and each AO tested, for both water washed and citric acid washed samples. When the antioxidant concentration is high, the maximal induction period reached will be the sum of IP_0 and A. Low values for B show that lower antioxidant concentrations are needed to reach the asymptotic response. Once the initial lineal phase is exceeded, higher AO concentrations do not result in a significant increase of oxidative stability. The value of coefficient of determination (R^2) has been

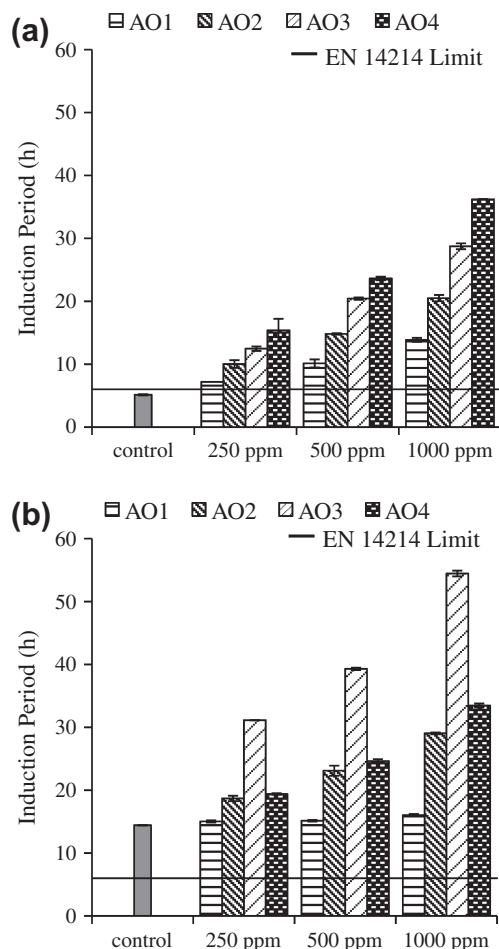


Fig. 3. Effect of additive addition to HOSME washed with distilled water (a) and citric acid (b).

found higher than 0.96 for all the equations (see Table 5). It has to be considered that commercial antioxidants used in this work are composed of several substances. Therefore, the equations may not be useful if pure compounds are tested as antioxidants.

3.7. Metal deactivator effectiveness of citric acid

In order to compare the effectiveness of citric acid as metal chelator, copper was added to RME and Rancimat test was carried out. Results are illustrated in Fig. 5. The presence of metal decreased the stability of RME, as measured by the induction period.

For RME distilled water washed, the addition of 67 ppm of copper results in a IP value of 2 h, whereas the noncontaminated sample showed 4.5 h.

As the metal concentration increased, the IP value decreased and beyond a concentration of 200 ppm IP value became almost constant. RME showed an IP value of 0.92 h using a 1000 ppm concentration of copper.

The RME sample washed with citric acid showed better resistance to the pro-oxidative effects of copper in biodiesel degradation. The minimum concentration added, 67 ppm, resulted in a slight reduction of the IP value, dropping from 8.1 to 7.9 h. Oxidative stability experiences an insignificant decline when larger amounts of metal are tested, reaching an IP value of 7.4 h with 1000 ppm of copper.

Copper can be found in fuel pumps and some materials of construction, iron is present in fuel refining, delivery and use, so the metal contamination of biodiesel could be minimized but metal deactivators are needed to prevent the destabilisation of biodiesel.

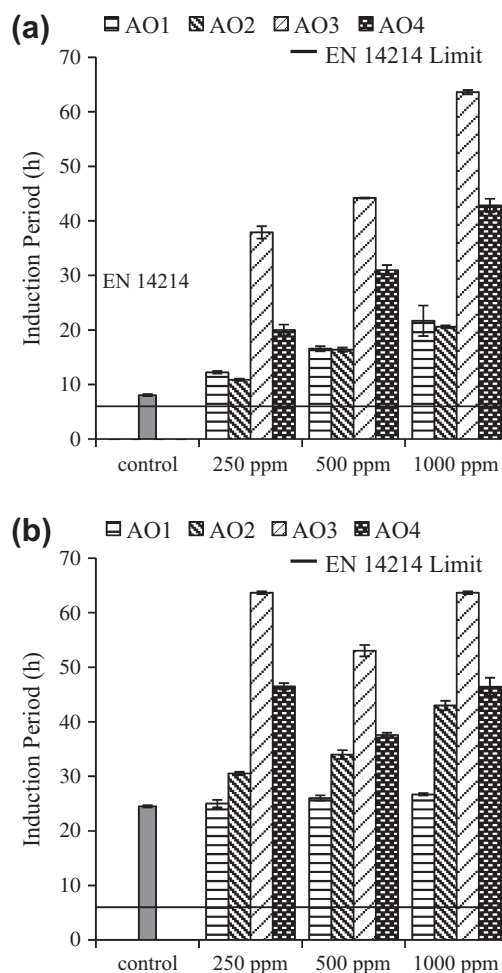


Fig. 4. Effect of additive addition to PME washed with distilled water (a) and citric acid (b).

4. Discussion

All the antioxidants tested provided better Rancimat oxidation stability for the samples. Their effectiveness seems to be dependent on both their chemical structure and the fatty acid profile of biodiesel. The presence of significantly less unsaturated esters in HOSME and PME may explain the higher IP values.

The use of citric acid as washing agent improved the Rancimat oxidation stability within the range of 250–1000 ppm for all the antioxidants tested, except for AO4. In this case, results obtained seem to be independent on the washing agent used. The antioxidant AO1 scarcely increase the IP values of citric acid washed samples compared to neat sample, whereas AO2 addition results in higher IP values.

The higher increase with propyl gallate-based antioxidants (AO3) compared to hindered phenols was also reported by Tang et al. [24] and Mittelbach and Schober [4] in soybean and rapeseed oil-based biodiesel, respectively. Results reported that with 250 ppm of propyl gallate, both SBME and RME exceeded an IP of 6 h. When 1000 ppm was added, this value increased until 10 and 17 h, for SBME and RME, respectively.

The IP values obtained when AO4 (mixed tocopherol-based antioxidant) was added to biodiesel samples were higher than expected when compared to bibliographical references. For several authors, the increment in the induction period observed in samples with α -tocopherols is lower compared to other antioxidants [23,25,16]. Dunn found that α -tocopherols had a very poor

Table 5
Correlations obtained for IP.

FAME sample	Additive	Water washed			Citric acid washed		
		IP ₀ (h)	Correlation	R ²	IP ₀ (h)	Correlation	R ²
SBME	AO1	2.9	$IP = IP_0 + 13 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/3715)]$	0.999	6	$IP = IP_0 + 0.0007 \cdot C_{AO}$	0.999
	AO2		$IP = IP_0 + 14 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/5385)]$	0.999		$IP = IP_0 + 0.0022 \cdot C_{AO}$	0.999
	AO3		$IP = IP_0 + 15 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1986)]$	0.991		$IP = IP_0 + 14 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/774)]$	0.999
	AO4		$IP = IP_0 + 12 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/759)]$	0.999		$IP = IP_0 + 13 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1846)]$	0.999
RME	AO1	4.6	$IP = IP_0 + 8 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/811)]$	0.977	8.1	$IP = IP_0 + 3 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1308)]$	0.992
	AO2		$IP = IP_0 + 21 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/4787)]$	0.998		$IP = IP_0 + 15 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/3032)]$	0.996
	AO3		$IP = IP_0 + 22 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/2273)]$	0.999		$IP = IP_0 + 21 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/801)]$	0.999
	AO4		$IP = IP_0 + 18 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1258)]$	0.989		$IP = IP_0 + 16 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/2608)]$	0.990
HOSME	AO1	5.1	$IP = IP_0 + 20 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1709)]$	0.997	14.4	$IP = IP_0 + 0.0013 \cdot C_{AO}$	0.999
	AO2		$IP = IP_0 + 34 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1603)]$	0.999		$IP = IP_0 + 15 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1097)]$	0.998
	AO3		$IP = IP_0 + 80 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/2178)]$	0.968		$IP = IP_0 + 73 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1206)]$	0.995
	AO4		$IP = IP_0 + 64 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1500)]$	0.999		$IP = IP_0 + 72 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/3289)]$	0.999
PME	AO1	8.0	$IP = IP_0 + 46 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/2921)]$	0.998	25.4	$IP = IP_0 + 0.0033 \cdot C_{AO}$	0.996
	AO2		$IP = IP_0 + 91 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/4898)]$	0.981		$IP = IP_0 + 46 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/2317)]$	0.999
	AO3		$IP = IP_0 + 80 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/754)]$	0.980		$IP = IP_0 + 45 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/478)]$	0.999
	AO4		$IP = IP_0 + 58 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/928)]$	0.996		$IP = IP_0 + 41 \cdot [1 - \exp(-C_{AO}/1276)]$	0.999

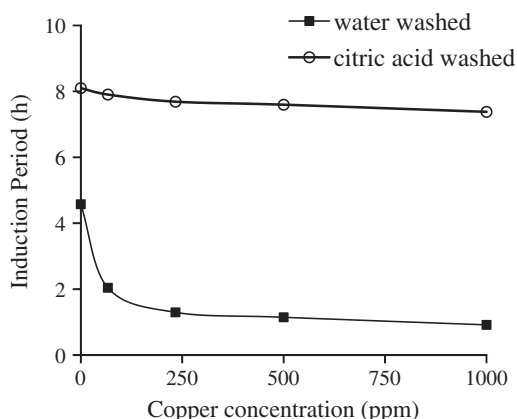


Fig. 5. The effect of methyl ester purifying agent in oxidative stability of RME in presence of copper.

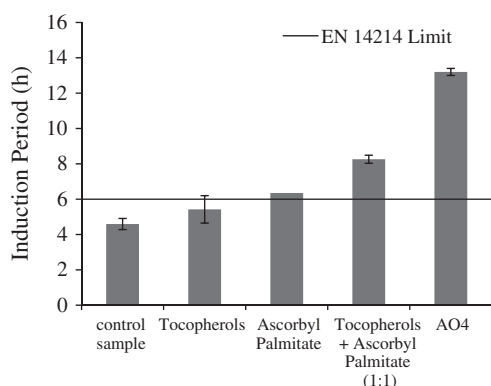


Fig. 6. Oxidative stability of RME (washed with distilled water): neat sample, mixed tocopherols (95%), ascorbyl palmitate, tocopherols/ascorbyl palmitate (1:1) and AO4. All of them at 1000 ppm.

influence in soybean oil based biodiesel [25], whereas Liang et al. reported insignificant increase in oxidative stability of palm oil based biodiesel even in a 3000 ppm dosage of α -tocopherol [16].

The commercial antioxidant AO4 used in the present study also contains propyl gallate and ascorbyl palmitate in a concentration of 20% and 5%, respectively. Consequently, these results could be due to the effectiveness of the other substances or synergistic

effects. Ascorbyl palmitate has been proved to regenerate primary antioxidants like tocopherols [7]. The synergistic effect of adding ascorbyl palmitate to tocopherol based antioxidant was observed by Merril et al. in high oleic sunflower oil [26].

In order to evaluate the differences between AO4 (commercial additive) and pure tocopherols, RME obtained by water washed process was treated with 1000 ppm of a mixture of tocopherols isomers (95% purity). The effectiveness of ascorbyl palmitate and tocopherols/ascorbyl palmitate mixture was also tested. Fig. 6 shows the IP values obtained.

With the same concentration (1000 ppm), pure tocopherols showed lower effectiveness than AO4. The resulted IP was 5.4 h, whereas AO4 addition resulted in an IP value of 13.2 h. When ascorbyl palmitate was added, 6.4 h was reached, and the mixture pure tocopherols/ascorbyl palmitate was found to provide synergistic effects, with an IP value of 8.3 h. The differences between the results obtained may indicate that effectiveness in AO4 is not provided by synergistic mixture tocopherols/ascorbyl palmitate but by other secondary component, especially propyl gallate, which has demonstrated a high efficacy in delaying biodiesel oxidation.

Although most of the economic studies of biodiesel production do not consider the use of additives as an extra cost of manufacturing process [27–29], the price of tocopherol based antioxidants is higher than synthetic antioxidants [17]. By reducing the additive dosage, citric acid may help to reduce costs in biodiesel production.

5. Conclusions

Four different commercial synthetic and natural AO were added to biodiesel made from different raw materials in order to compare their effectiveness in preventing biodiesel oxidation. The use of antioxidants additives improved the oxidation stability of the biodiesel fuels tested. The IP of the neat samples were function of their fatty acid profile, being the more stable PME because of its high content in saturated fatty acids whereas SBME shows the lowest induction period, due to the high content in polyunsaturated acids.

The antioxidant AO3 (propyl gallate) and AO4 (tocopherol based antioxidant) were identified as the most effective substances in delaying the oxidative stability of the samples tested. Results for tocopherol based antioxidant (AO4) did not agree with bibliographical results. It has been concluded that pure tocopherols are less effective than AO4. The high IP values measured may be due to other antioxidant substances comprised in the commercial formula of AO4. Monophenolic compounds (AO1) addition results in

the lowest stability, whereas better effects are reported when the mixture hindered phenol/hindered amine is used (AO2).

When citric acid is used as washing agent, IP values of all samples are improved and they fulfill the European Standard 14214. The induction period of biodiesel purified with citric acid could be improved with AO2, AO3 and AO4, while AO1 effects were not significant.

Compared to water washed, acid washed requires less quantity, which not only reduces the biodiesel losses but also minimizes water and energy consumption. As a chelating agent, it has been proved that citric acid also prevent biodiesel oxidation in presence of copper.

Data obtained was fitted to an equation which can be useful to determine the antioxidant concentration required to obtain a specific IP value. Resulting parameters depend on feedstock used, antioxidant added and washing agent. The higher increase on oxidative stability was achieved with AO loading up to 1000 ppm. Between 2000 and 5000 ppm the increase of IP value was still observed but it was less significant.

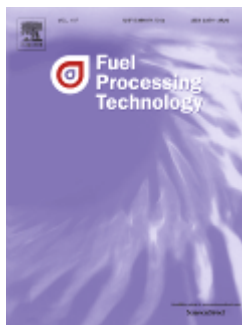
Further studies are required to investigate and confirm that antioxidants used will assure the long term storage stability of biodiesel fuel.

Acknowledgements

Financial support from the (CICYT), Spanish project CTQ-2009-09-088 and from PRI-PIBAR-2011-1375 is gratefully acknowledged.

References

- [1] Biofuels Barometer. EurObser'ER; 2011.
- [2] Meher LC, Sagar D, Naik S. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. *Renew Sust Energy Rev* 2006;10:248–68.
- [3] Yanishlieva N, Marinova E. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur J Lipid Sci Technol* 2001;103:752–67.
- [4] Mittelbach M, Schober S. The influence of antioxidants on the oxidation stability of biodiesel. *JAACS* 2003;80:817–23.
- [5] Carelli A, Franco I, Crapiste G. Effectiveness of added natural antioxidants in sunflower oil. *Grasas y Aceites* 2005;56(4):303–10.
- [6] Maia E, Borsato D, Moreira I, Spacino K, Rodrigues P, Gallina A. Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants. *Fuel Process Technol* 2011;92:1750–5.
- [7] Wanasundara P, Shahidi F. Antioxidants: science, technology and applications. In: Shahidi F, editor. *Bayley's industrial oil and fat products*. John Wiley & Sons, Inc.; 2005. p. 431–89.
- [8] Gordon M, Mursi E. A comparison of oil stability based on the Metrohm Rancimat with storage at 20 °C. *JAACS* 1994;71:649–51.
- [9] Kılıç M, Bayraktar E, Ates S, Mehmetoglu U. Investigation of extractive citric acid fermentation using response-surface methodology. *Process Biochem* 2002;37:759–67.
- [10] Grewal HS, Kalra KL. Fungal production of citric acid. *Biotechnol Adv* 1995;13:209–34.
- [11] Hrašl A, Hadolin M, Knez Z, Bauman D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem* 2000;71:229–33.
- [12] Hannah T, Osborn-Barnes, Casimir C. Copper-catalyzed oxidation of a structures lipid-based emulsion containing α -tocopherol and citric acid: influence of pH and NaCl. *J Agric Food Chem* 2003;51:6851–5.
- [13] Knothe G, Dunn R. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. *JAACS* 2003;80:1021–6.
- [14] Sarin A, Arora R, Singh NP, Sarin R, Malhotra RK, Sharma M, et al. Synergistic effect of metal deactivator and antioxidant on oxidation stability of metal contaminated *Jatropha* biodiesel. *Energy* 2010;35:2333–7.
- [15] Santos A, Damasceno S, Araújo P, Marques V, Rosenham R, Fernandes V, et al. Caffeic acid: an efficient antioxidant for soybean biodiesel contaminated with metals. *Energy Fuels* 2011;25:4190–4.
- [16] Liang Y, May C, Foon C, Ngan M, Hock C, Basiron Y. The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm biodiesel. *Fuel* 2005;85:867–70.
- [17] Sarin A, Singh NP, Sarin R, Malhotra RK. Natural and synthetic antioxidants: influence on the oxidative stability of biodiesel synthesized from non-edible oils. *Energy* 2010;35:4645–8.
- [18] Focke W, Van Der Westhuizen I, Glober A, Nshoane K, Reddy J, Luyt A. The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. *Fuel* 2012;94:227–33.
- [19] Kósa Cs, Chemla S, Pawelke B, Theumer G, Habicher WD. New combined hindered phenol/hindered amine stabilizers for polymers based on diphenylmethane-4,40-diisocyanate. *Polym Degrad. Stabil.* 2003;81:453–61.
- [20] Valenzuela A, Nieto S. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas y Aceites* 1996;47:186–96.
- [21] Bouaid A, Diaz Y, Martínez M, Aracil J. Pilot plant studies of biodiesel production using *Brassica carinata* as raw material. *Catal Today* 2005;106:193–6.
- [22] Vicente G, Coterón A, Martínez M, Aracil J. Application of the factorial design of experiments and response surface methodology to optimize biodiesel production. *Ind Crops Prod* 1998;8:29–35.
- [23] Loh S-K, Chew S-M, Choo Y-M. Oxidative stability and storage behavior of fatty acid methyl esters derived from used palm oil. *JAACS* 2006;83:947–52.
- [24] Tang H, Wang A, Salley S. The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. *JAACS* 2008;85:373–82.
- [25] Dunn RO. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). *Fuel Process Technol* 2005;86:1071–85.
- [26] Merrill L, Pike O, Ogden L, Dunn M. Oxidative stability of conventional and high oleic vegetable oils with added antioxidants. *JAACS* 2008;85:771–6.
- [27] Marchetti JM, Miguel VU, Errazu AF. Techno-economic study of different alternatives for biodiesel production. *Fuel Process Technol* 2008;89:740–8.
- [28] Haas MJ, McAloon AJ, Yee WC, Foglia TA. A process model to estimate biodiesel production costs. *Bioresour Technol* 2006;97:671–8.
- [29] Araújo VK, Hamacher S, Scavarda LF. Economic assessment of biodiesel production from waste frying oils. *Bioresour Technol* 2010;101:4415–22.



Long term storage stability of biodiesel: Influence of feedstock, commercial additives and purification step.

M. Serrano, M. Martínez, J. Aracil.

Fuel Processing Technology 2013 (116) 135-141.

Factor de Impacto (2013): 3.019

Factor de Impacto 5 años (2013): 3.707

Citaciones: 6



Long term storage stability of biodiesel: Influence of feedstock, commercial additives and purification step

Marta Serrano, Mercedes Martínez, José Aracil *

Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemistry, Complutense University, 28040 Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 March 2013

Received in revised form 8 May 2013

Accepted 9 May 2013

Available online 5 June 2013

Keywords:

Biodiesel

Storage stability

Raw material

Commercial additives

Purification

ABSTRACT

In the present work, the effect of four commercial additives, three synthetic (AO1, AO2 and AO3) and one natural based antioxidant (AO4), on the oxidation stability of biodiesel after six months of storage was investigated. Biodiesel fuel was obtained from different vegetable oils: Soybean, rapeseed, high oleic sunflower and palm methyl ester (SBME, RME, HOSME and PME, respectively). The influence of the washing agent used in the purification step (distilled water or a citric acid solution) was also studied. Samples were stored for a 6 month period at room temperature and not exposed to day light. Propyl gallate based antioxidant was found to provide the best oxidative stability after the storage period. Biodiesel obtained from low unsaturated feedstocks, such as palm oil, presented more oxidative stability than higher unsaturated oils, such as soybean oil. By purifying methyl ester phase with citric acid, the washing agent volume required resulted reduced. The antioxidant characteristic of citric acid enhanced the IP values of the samples, retarding the oxidation process.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Compared to diesel fuel, biodiesel is more sensible to degradation, which results in a reduction in fuel combustion efficiency. This quality is one of the most important restrictions for biodiesel market acceptance. A minimum oxidative stability is required for not only recently produced biodiesel, but also during its storage, handling and use. Biodiesel oxidative stability during storage is strongly dependant on fatty acid profile of raw material used. Polyunsaturated fraction accelerates the oxidation process [1]. Besides the unsaturation degree of biodiesel, storage conditions and presence of impurities are determinant factors for methyl ester oxidation. Temperature, exposure to air and light, tank material of construction or presence of metal traces and antioxidant substances are factors that influence the stability of biodiesel [2]. Several studies [3,4] reported the deterioration of fatty acid methyl esters (FAMES) including changes in acid value (AV), peroxide value (PV), and viscosity (η). It was found that these parameters increased over storage time. Other studies [5,6] reported the biodiesel degradation by monitoring changes in induction period (IP), heating value, ester content, etc. Primary products of methyl ester oxidation are hydroperoxides. Their degradation results in secondary product formation: short chain products, such as aldehydes, ketones, organic acids, etc. or polymeric products. Organic acid and aldehyde formation results in acid value increment. Hydrolysis of fatty esters to free fatty acids also causes the acidity augmentation. European Standard EN 14214 fixes a maximum AV of 0.5 mg KOH/g.

Peroxide content is not specified in biodiesel fuel standards. PV will increase as a result of free radical oxidation into peroxides and hydroperoxides, however PV is not suitable for monitoring FAME storage oxidation [7].

Kinematic viscosity of biodiesel increases because of the formation of long chain saturated compounds and polymers [5]. In European specifications, the kinematic viscosity is limited to a value between 3.5 and 5 mm²/s.

Induction period (IP) is a thermal oxidative stability parameter to measure the stability of materials. Rancimat test, EN 14112, is an accelerated test used to evaluate the oxidative stability of methyl esters as alternative diesel fuels. The minimum IP value is fixed in 6 h by EN 14214 and in 3 h by ASTM D6751.

Different storage conditions have been tested in order to determine their influence in oxidative stability. Thompson et al. monitored changes in peroxide value, acidity, viscosity, density and heat of combustion of rapeseed methyl and ethyl esters over 2 years of storage. Whereas no effect was found for container type (glass or metal), samples stored indoors, where mean temperature was higher than that outdoors, degraded faster [8]. Leung et al. investigated the influence of temperature, water content and exposure to air in edible rapeseed oil based biodiesel degradation. They reported that samples stored at 0 and 20 °C showed similar resistance to oxidation (by means of acid value determination) regardless of the storage conditions, while AV of samples stored at 40 °C increased significantly after 52 weeks [6].

Mittelbach et al. evaluated the induction period, acidity, peroxide value and kinematic viscosity changes in rapeseed oil based biodiesel at different storage conditions over 150 days [9]. Exposure to air, day-light and impurities such as metal traces caused an increase in acid

* Corresponding author. Tel./ fax: +34 91 394 4167.

E-mail address: jam1@quim.ucm.es (J. Aracil).

Nomenclature

AO1 Antioxidant 1.	Hindered Phenol based antioxidant.
AO2 Antioxidant 2.	Hindered phenol/amine based antioxidant.
AO3 Antioxidant 3.	Propyl Gallate based antioxidant.
AO4 Antioxidant 4.	Mixed tocopherols based antioxidant.
HOSME	High oleic sunflower methyl ester.
IP	Induction Period (h).
IP ₀	Induction Period of fresh sample (h).
IP ₆	Induction Period of stored sample (h).
IPR	Induction Period Reduction (%).
PME	Palm methyl ester.
RME	Rapeseed methyl ester.
SBME	Soybean methyl ester.

and peroxide values and viscosity, whereas induction period value decreased. The presence of metal traces results in an increase of peroxide formation rate, which leads to faster biodiesel degradation. Copper has the strongest effect on storage stability of jatropha oil based biodiesel [10].

Antioxidants delay the oxidation process of biodiesel extending its useful life. Common additives have been tested in both conventional [4,11–13] and non conventional oil based methyl esters [14,15] under different storage periods and conditions. Tang et al. measured the evolution of some quality parameters in soybean oil based biodiesel with several antioxidants, both natural and synthetic. After 9 months of storage, adding propyl gallate resulted in a good stabilization effect, only exceeded by TBHQ addition [12]. Monophenolic compounds such as BHT and BHA were not able to maintain the IP value over 6 h, whereas α -tocopherol dosage provided the lowest IP values in both fresh and aged samples.

McCornick et al. reported the ability of commercial phenolic antioxidants in preventing acids and insoluble formation [16].

In the ester washing process, the water used can be slightly acidified, normally with H₂SO₄ or HCl to remove impurities. If citric acid (2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid) is used, these impurities can also be removed efficiently.

As an antioxidant substance, citric acid is expected to increase the oxidative stability of FAME. Few studies investigated the effect of citric acid on long term storage of biodiesel. However, various studies have evaluated its effectiveness in vegetable and fish oils, [17,18] specially the synergies of citric acid with natural and synthetic antioxidant substances [19]. These studies concluded that citric acid was less effective than other antioxidant substances in delaying oil oxidation.

In a prior research, the effectiveness of four commercial additives in delaying FAME oxidation was studied. Two FAME purification processes were tested: in the first one, after transesterification methyl ester phase was washed with distilled water. In the second one, washing agent was a 0.1 M citric acid solution [20].

The aim of the present study was to evaluate the oxidative stability of the biodiesel samples after 6 months of storage under particular conditions. The effects of commercial antioxidants and the presence of citric acid in the purification step were investigated in terms of Induction Period measured in a Rancimat equipment.

2. Experimental

2.1. Materials

Soybean, rapeseed, high oleic sunflower and palm oil were supplied by Gracomsa Alimentaria (Valencia, Spain). Properties and fatty acid profile of vegetable oils are shown in Table 1. Methanol (99.8% purity) was supplied by Cor Química (Spain). The catalyst used in transesterification

Table 1

Fatty acid composition (wt.%) and properties of vegetable oils.

Fatty acid (wt.%)		Vegetable oil			
		Soybean	Rapeseed	High oleic sunflower	Palm
Myristic	C14:0	0.3	0.1	0.0	2.5
Palmitic	C16:0	10.9	5.1	3.5	40.8
Palmitoleic	C16:1	0.0	0.0	0.1	0.0
Stearic	C18:0	3.2	2.1	3.1	3.6
Oleic	C18:1	24.0	57.9	82.7	45.2
Linoleic	C18:2	54.5	24.7	9.0	7.9
Linolenic	C18:3	6.8	7.9	0.1	0.0
Arachidic	C20:0	0.1	0.2	0.3	0.0
Gadoleic	C20:1	0.0	1.0	0.3	0.0
Behenic	C22:0	0.0	0.0	0.8	0.0
Erucic	C22:1	0.0	0.2	0.0	0.0
Lignoceric	C24:0	0.0	0.0	0.2	0.0
Saturated		14.5	7.5	7.9	46.9
Monounsaturated		24	59.1	83.1	45.2
Polyunsaturated		61.3	32.6	9.1	7.9
(2,3)					
<i>Properties</i>					
Acid number		0.18	0.17	0.24	0.17
[g KOH/g]					
Iodine number		134	104	91	56
[gI ₂ /100 g]					
Peroxide number		1.1	2.98	2.5	4.1
[meq/kg]					
Water content		0.01	0.01	0.02	0.01
[mg/kg]					
Induction Period [h]		7.0	9.2	10.0	25.8

was potassium methoxide (32% purity) purchased from BASF Ibérica (Spain). Citric acid was supplied by Sigma Aldrich (Spain).

Four commercial additives were tested in this study. They were identified by their main component, since they are composed of several substances. Antioxidant 1 (AO1) is mainly composed by 2,6-Di-tert-butylphenol, a hindered phenol. Antioxidant 2 (AO2) is composed of a mixture of 2,6-Di-tert-butylphenol and ethoxyquin (6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline). Propyl gallate (3,4,5-trihydroxybenzoate) is the basic substance in antioxidant 3 (AO3). Finally, mixed tocopherols composed antioxidant 4 (AO4). Tocopherols are natural phenolic substances obtained from vegetable oils. AO4 also contains propyl gallate and ascorbyl palmitate. Table 2 resumes the composition and main properties of the additives used.

2.2. Procedure

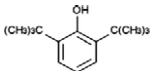
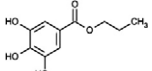
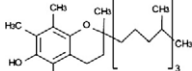
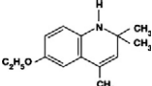
Fatty acid methyl ester produced from different vegetable oils was used in this study: soybean methyl ester (SBME), rapeseed methyl ester (RME), high oleic sunflower methyl ester (HOSME) and palm methyl ester (PME).

Experiments were carried out in a stirred batch reactor of 500 cm³ volume. Vegetable oil, methanol and basic catalyst (potassium methoxide) were added to the reactor. The catalyst concentration was 1.5 wt.% and the methanol/oil molar ratio 6:1. Reaction conditions were: temperature 60 °C, agitation 600 r.p.m and total reaction time 60 min. Methyl ester and glycerol phases were separated by decantation and methyl ester phase was purified by two different purification processes: in the first one, distilled water was used to remove impurities from methyl ester phase and in the second one, citric acid was used as washing agent. Finally, methyl ester phase was dried under moderate vacuum in order to remove water and methanol traces [21].

After FAME purification, commercial antioxidants described in Table 2 were added to the samples. In a previous study [20], antioxidants were added to fresh biodiesel samples in a concentration range of 250–5000 ppm. Only samples with 1000 ppm of commercial antioxidants were used in the present study.

Table 2

Composition and properties of commercial additives used in the study.

	AO1	AO2	AO3	AO4
	Hindered phenol	Hindered phenol/amine	Propyl Gallate	Mixed tocopherols
Main component	2,6-Di-tert-butylphenol 	2,6-Di-tert-butylphenol	Propyl Gallate 	Mixed tocopherols 
Other components	Mixed phenols	Ethoxyquin 	Ascorbyl palmitate Citric acid derivatives	Propyl Gallate Ascorbyl palmitate Citric acid derivatives
Properties				
Density 20 °C, [g/l]	0.93–0.95	1.03	N/S	N/S
Viscosity 25 °C, [mPa·s]	19	1800	N/S	N/S
Boiling point [°C]	224–264	224–264	N/S	N/S

N/S: not specified.

2.3. Analytical method

Methyl ester content was obtained by gas chromatography, according to standard method EN 14103. Fresh methyl ester samples were analyzed with a titrator Metrohm 703 according to the following procedures: acid value AV (UNE-EN 14104), peroxide value PV (EN-ISO 3960), iodine value IV (UNE-EN 14111) and moisture content by Karl Fischer method (EN 12937). Viscosity η was measured at 40 °C (EN-ISO 3104). Measurements were made in duplicate.

Oxidative stability was measured by means of the Rancimat method, described in standard EN 14112. Biodiesel samples of 3 g were heated to 110 °C and maintained at this temperature. An air current of 10 ml/h flows through the sample carrying the oxidation products that will be discharge in a collecting flask that contains 50 ml of distilled water. The changes in water conductivity are measured and an oxidation curve is obtained. The cusp point of the oxidation curve (the point where a rapid rise in the conductivity starts) gives the Induction Period (IP). Induction period was evaluated for both fresh (closed to the time it was produced) and aged (after 6 months of storage) biodiesel samples.

2.4. Storage conditions

A total of 40 biodiesel samples (50 ml) were stored in glass bottles with a capacity of 250 ml. They were kept in the dark at room temperature for 6 months.

The Rancimat method (EN 14112) was used to measure the IP of the aged samples. Each sample was run in duplicate.

3. Results and discussion

The effect of different commercial antioxidants (AO1, AO2, AO3 and AO4) on the Rancimat oxidation of the samples after storage is discussed in the following sections.

In order to quantify the relative change in IP value after 6 months of storage, a factor named *Induction Period Reduction* (IPR) was defined as:

$$\text{IPR}(\%) = [(IP_0 - IP_6)/IP_0] \cdot 100 \quad (1)$$

where IP_0 is the induction period of fresh sample in hours and IP_6 is the induction period of the sample measured after 6 months of storage.

Table 3

Properties of methyl esters before storage and limits fixed by European Standard EN 14214. Operation conditions: catalyst concentration 1.5%, methanol/oil molar ratio 6:1 and operation temperature 60 °C. Methyl ester phase purified with distilled water or citric acid solution (0.1 M).

Property	Washing agent	Limits		SBME	RME	HOSME	PME
		Min	Max				
Ester content (wt.%)	Water	96.5		>97	>97	>97	>97
Acid number (mg KOH/g)	Citric acid			>97	>97	>97	>97
	Water		0.5	0.16	0.13	0.14	0.15
Water content (mg/kg)	Citric acid			0.34	0.18	0.21	0.20
	Water		500	<500	<500	<500	<500
Iodine value ($gI_2/100\ g$)	Citric acid			<500	<500	<500	<500
	Water		120 ^a	130	114	87	51
Peroxide number (meq/kg)	Citric acid			130	113	87	51
	Water			4.24	2.43	3.98	1.51
Induction Period (h)	Citric acid			4.91	5.09	3.4	2.4
	Water	6.0		2.9	4.6	5.1	8.1
Viscosity (mm^2/s)	Citric acid			6.0	8.1	14.4	24.5
	Water	3.5	5.0	4.8	4.7	4.8	4.9
	Citric acid			4.8	4.6	4.9	4.9

^a RD 61/2006 (Spain) Iodine value max. 140 $gI_2/100\ g$.

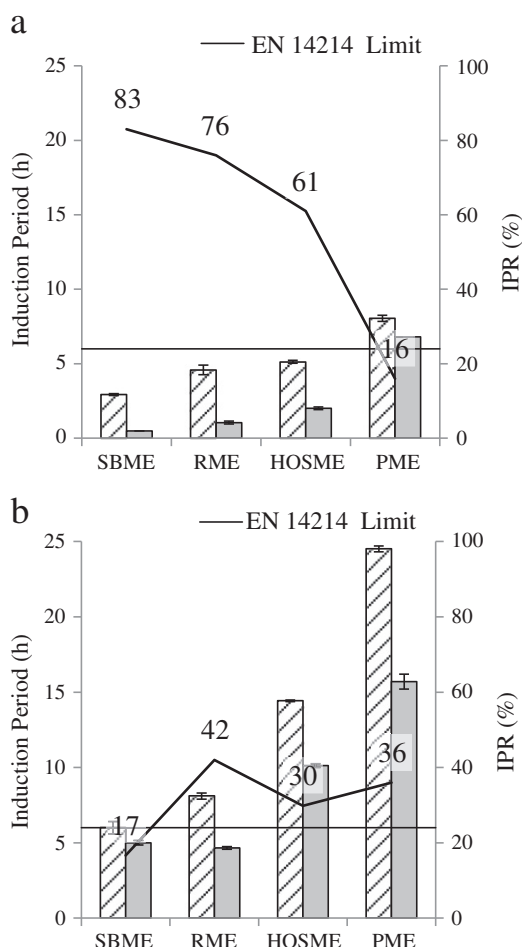


Fig. 1. Induction period of neat biodiesel samples. Methyl ester phase washed with distilled water (a) and citric acid solution (b). Induction Period (h) values as bar chart: before storage (hatched bars) and after 6 months of storage (solid bars). Induction Period Reduction (%) as a line chart —.

Main properties of FAME before storage are shown in Table 3. As can be seen, except IP values, the rest of the parameters examined did not show any alteration based on the washing agent used, except peroxide and acid values, but they remained within EN 14214 specifications.

3.1. Long term oxidative stability of neat samples

Induction period of biodiesel neat samples, which means without any commercial antioxidant added, were measured before and after 6 months of storage. Results are illustrated in Fig. 1 (a & b). Samples purified with distilled water showed IP and IPR values that are consistent with their fatty acid profiles: FAMES that contain high unsaturated fraction (especially polyunsaturated fatty acids) are more prone to suffer oxidation.

SBME contains a higher polyunsaturated FAME fraction (61.3%), and therefore, a lower resistance to long term oxidation. In 6 months, there has been a decrease of 83% in induction period, from 2.9 to 0.48 h.

RME has also a significant polyunsaturated fraction (32.3% w/w), and its oxidative stability decreased by 76%, dropping from 4.6 to 1.1 h in the same period.

HOSME and PME, with polyunsaturated fatty acid contents of 9.1 and 7.9 wt.%, respectively, showed better resistance to long term oxidation. The induction period decreased from 5.1 to 2 h (IPR = 61%) and from 8.1 to 6.8 h (IPR = 16%), for HOSME and PME respectively.

When citric acid solution was used to purify the methyl ester phase, the volume of washing agent was almost reduced to half if compared to the water washed process.

As can be seen in Fig. 1-b, citric acid enhanced the stability of fresh samples and reduced the relative change in IP values of FAME subjected to storage. SBME showed the lowest IPR value. Its oxidative stability dropped from 6.0 to 5.0 h (IPR = 17%). IP value of RME showed the highest reduction, from 8.1 to 4.7 h (IPR = 42%). Finally, both HOSME and PME presented IPR values of 30 and 36%, respectively. The IP value of PME was more affected when citric acid was used in the purification process.

After six months of storage, only HOSME and PME still presented IP values higher than 6 h.

3.2. Long term oxidative stability of SBME

The oxidative degradation of SBME distilled water and citric acid washed samples with 1000 ppm of antioxidants is illustrated in Fig. 2 (a & b).

In an early stage, IP values of fresh SBME water washed samples were above 6 h when AO1, AO3 and AO4 were used. Within 6 months of storage, both samples containing AO1 and AO2 did not meet EN 14214.

Antioxidants AO3 and AO4 provided a better protection against oxidation during the storage period. SBMEs with AO3 and AO4 meet EN 14214 before and after 6 months of storage.

As can be seen in Fig. 2-b, all SBME citric acid washed and treated samples showed IP values above 6 h before storage. Only samples with AO1 and AO2 went out of specification within 6 months of storage.

The IPR value for AO3 was higher in the citric acid washed sample (36%) than in the water washed sample (12%); however, the IPR value

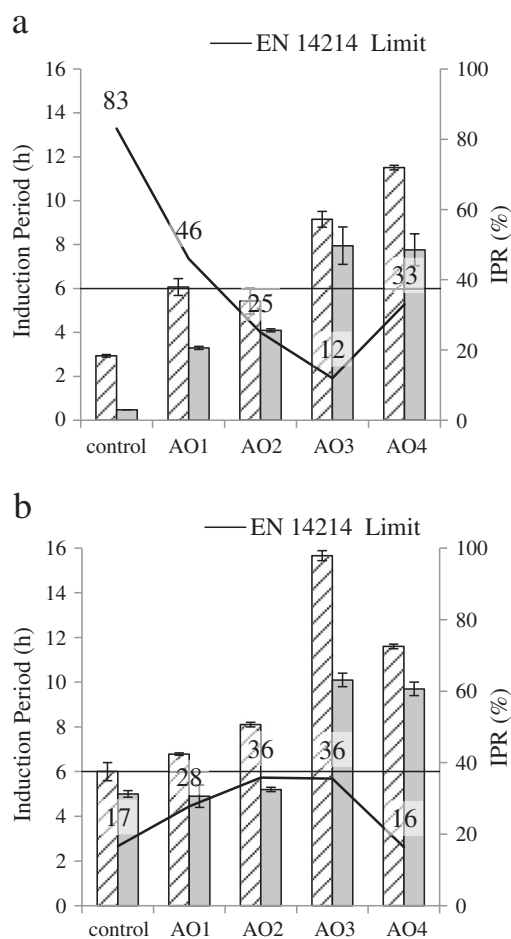


Fig. 2. Influence of additive (1000 ppm) on storage stability of SBME. Methyl ester phase washed with distilled water (a) and citric acid solution (b). Induction Period (h) values as bar chart: before storage (hatched bars) and after 6 months of storage (solid bars). Induction Period Reduction (%) as a line chart —.

for AO4 was higher in the water washed sample. After 6 months of storage, only AO3 and AO4 addition could ensure that SBME fulfils the European Standard EN 14214, regardless of the use of distilled water or citric acid solution in the washing step.

3.3. Long term oxidative stability of RME

As shown in Fig. 3-a & b, all fresh RME samples exceeded 6 h when antioxidant was added. When water was used in the methyl ester purification, only AO2 was not able to delay RME degradation sufficiently; IP measured after storage dropped from 8.5 to 5.2 h (IPR = 39%). AO3 showed the better effectiveness in retarding oxidation (Fig. 3-a).

As it is shown in Fig. 3-b, only the RME citric acid washed sample with AO1 did not fulfill EN 14214 after storage. Its IP value decreased 46%, from 9.6 to 5.2 h. AO4 addition of 1000 ppm resulted in similar IP values for RME fresh and aged samples regardless of the washing agent used in purification process. According to IPR values, when additives were used, IP values of RME samples washed with distilled water were less affected compared to those washed with citric acid. This result is particularly visible when AO3 was added to RME. IP value dropped from 12.8 to 10.8 h in water washed samples (IPR = 14%) and from 22.6 to 13.0 in citric acid washed samples (IPR = 42%).

3.4. Long term oxidative stability of HOSME

The results for HOSME are illustrated in Fig. 4-a & b, for both water washed and citric acid washed samples, respectively.

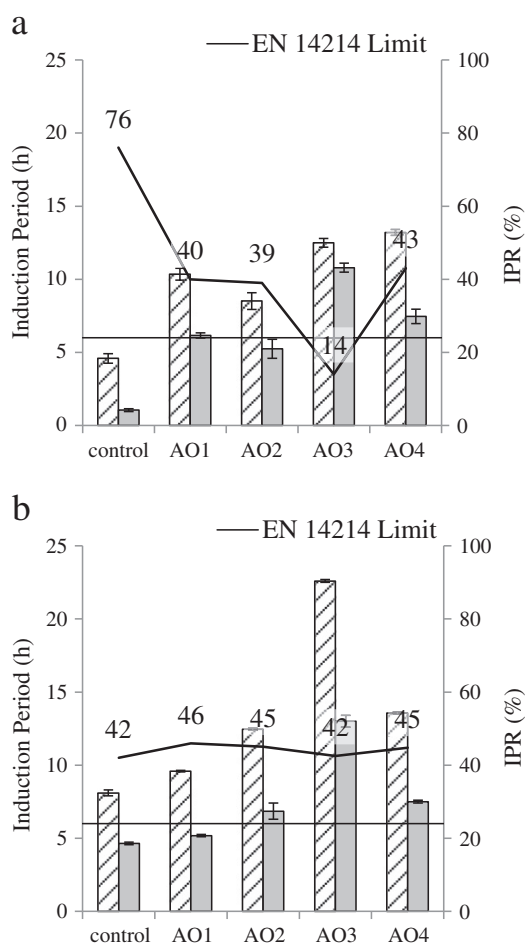


Fig. 3. Influence of additive (1000 ppm) on storage stability of RME. Methyl ester phase washed with distilled water (a) and citric acid solution (b). Induction Period (h) values as bar chart: before storage (white) and after 6 months of storage (hatched). Induction Period Reduction (%) as a line chart —.

Water washed HOSME had suffered a marked degradation during storage, but treated samples showed good protection against oxidation. Different IPR values were obtained within the storage period, but none of the treated HOSME samples went out of specification for oxidative stability (Fig. 4-a). The increasing sequence of effectiveness in delaying oxidation during storage was AO1 < AO2 < AO3 < AO4. The minimum IP value was 10.2 h, corresponding to HOSME with 1000 ppm of AO1, after the storage period.

When water was used in the HOSME purification process, antioxidants were needed to meet the EN 14214 at both month 0 of storage and month 6.

Fig. 4-b shows that HOSME that has been purified with citric acid presents a good stability after 6 months of storage for all the commercial antioxidants added. IPR values were slightly lower in citric acid washed samples. When AO1 and AO4 were added, IP values were found to be independent of the washing agent used in FAME purification.

When additives were used, regardless the washing agent used, IP values resulted far from the European Standard requirement even after the storage period.

3.5. Long term oxidative stability of PME

As can be seen in Fig. 5-a & b, neat and PME with additives showed the best oxidative stability due to the fatty acid profile of palm oil. PME fulfilled the EN 14214 without any antioxidant added. After six months, IP value was still above 6 h. AO1 and AO2 additions were found to provide similar protection in water washed PME, while AO2 showed a

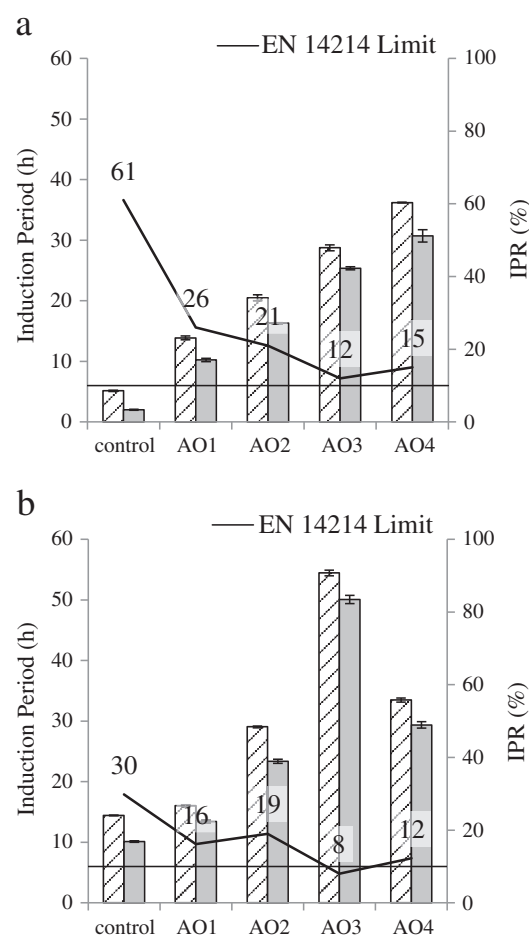


Fig. 4. Influence of additive (1000 ppm) on storage stability of HOSME. Methyl ester phase washed with distilled water (a) and citric acid solution (b). Induction Period (h) values as bar chart: before storage (white) and after 6 months of storage (hatched). Induction Period Reduction (%) as a line chart —.

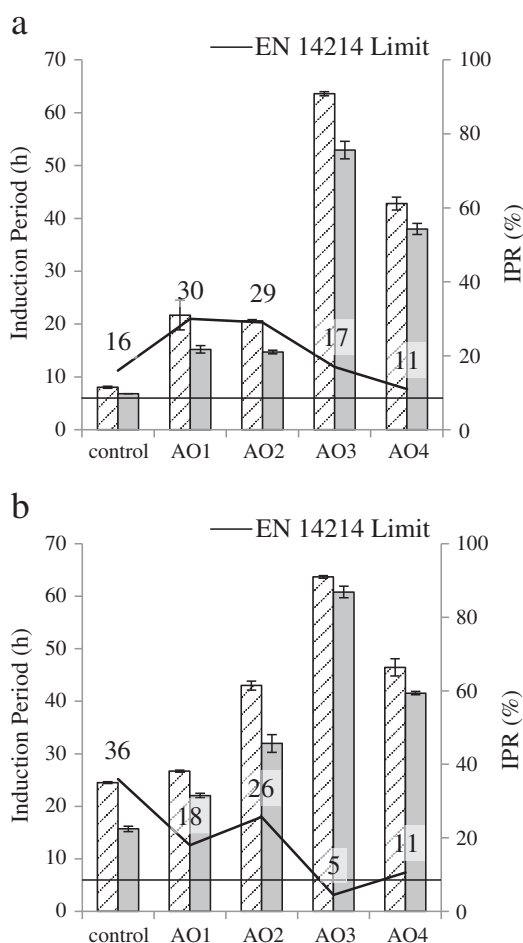


Fig. 5. Influence of additive (1000 ppm) on storage stability of PME. Methyl ester phase washed with distilled water (a) and citric acid solution (b). Induction Period (h) values as bar chart: before storage (hatched) and after 6 months of storage (solid). Induction Period Reduction (%) as a line chart —.

higher protection in citric acid washed samples. The best results were obtained with AO3 and AO4, independently of the washing agent used.

Similar to HOSME, all PME samples treated with 1000 ppm of additives showed IP values that are well above the EN 14214 even after the storage period; consequently, lower additive doses may be enough to ensure suitable oxidative stability.

All the antioxidants tested are phenolic compounds, except ethoxyquin, which is an aromatic amine. They all contain one or more labile hydrogen atoms (OH or NH group) that can be removed by a peroxy radical, delaying the lipid degradation. Propyl gallate, the main component in AO3, was found to enhance the best oxidative stability for SBME, RBME, HOSME and PME. Compared to monophenolic compounds contained in AO1 and AO2, propyl gallate has three hydroxyl groups that act as proton donors, and it is more effective in preventing oxidation by scavenging free radicals.

The good results obtained with propyl gallate based antioxidant are consistent with those of other researchers [12,22].

In a preceding study, it had been concluded that the high effectiveness obtained with AO4 may be also attributed to propyl gallate [20]. AO4 contains mixed tocopherols and propyl gallate among other minority components. Tocopherols demonstrated a low effectiveness in delaying biodiesel oxidation, according to previous studies [13,23,24].

4. Conclusions

In this study, methyl esters with different fatty acid profiles were obtained from two different purification methods. SBME, RME, HOSME

and PME were washed with distilled water or a citric acid solution. Four commercial additives were added in order to compare their effectiveness in retarding degradation of the samples during 6 months of storage.

Methyl esters obtained from low polyunsaturated oils, such as palm and high oleic sunflower oil showed improved stability compared to higher polyunsaturated oils, soybean and rapeseed oil.

Citric acid used in the purification step has been proven to increase the stability of fresh and stored FAME samples. A clear advantage of washing with a citric acid solution is that the volume required to remove the impurities presented in methyl ester phase can be halved if compared to the purification process with distilled water.

Except for PME, the relative decrease in IP values of neat samples after storage was always lower than that obtained for water washed samples.

When antioxidants were used and results compared, IP values of citric acid washed RME samples were more affected (higher IPR values), and for SBME with AO2 and AO3. During storage, it may be assumed that citric acid becomes exhausted (and so does its effectiveness in scavenging free radicals) in a shorter time than the antioxidant substances tested in this study. Thus, if citric acid is used as the washing agent in the purification step, despite the high IP values obtained in fresh FAME, it may not provide enough protection to keep the IP values above 6 h during long term storage, especially for SBME and RME.

Acknowledgment

Financial support from the (CICYT), Spanish project CTQ-2009-09-088 and from PRI-PIBAR-2011-1375 is gratefully acknowledged.

References

- [1] G. Knothe, R. Dunn, Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 80 (2003) 1021–1026.
- [2] E.S. Almeida, F.M. Portela, R. Sousa, D. Daniel, M. Terrones, E. Ritcher, R. Muñoz, Behaviour of the antioxidant *tert*-butylhydroquinone on the storage stability and corrosive character of biodiesel, *Fuel* 90 (2011) 3480–3484.
- [3] A. Bouaid, M. Martinez, J. Aracil, Long storage stability of biodiesel from vegetable and used frying oils, *Fuel* 86 (2007) 2596–2602.
- [4] C.Y. Lin, C.C. Chiu, Effects of oxidation during long-term storage on the fuel properties of palm oil-based biodiesel, *Energy & Fuels* 23 (2009) 3285–3289.
- [5] C. Pattamaprom, W. Pakdee, S. Ngamjaroen, Storage degradation of palm-derived biodiesels: its effects on chemical properties and engine performance, *Renewable Energy* 37 (2012) 412–418.
- [6] D.Y.C. Leung, B.C.P. Koo, Y. Guo, Degradation of biodiesel under different storage conditions, *Bioresource Technology* 97 (2006) 250–256.
- [7] G. Knothe, Some aspects of biodiesel oxidative stability, *Fuel Processing Technology* 88 (2007) 669–677.
- [8] J.C. Thompson, C.L. Peterson, D.L. Reece, S.M. Beck, Two-year storage study with methyl and ethyl esters of rapeseed, *American Society of Agricultural Engineers* 41 (1998) 931–939.
- [9] M. Mittelbach, S. Gangl, Long storage stability of biodiesel made from rapeseed and used frying oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 78 (2001) 573–577.
- [10] S. Jain, M.P. Sharma, Long term storage stability of *Jatropha curcas* biodiesel, *Energy* 36 (2011) 5409–5414.
- [11] G. Karavalakis, D. Hilari, L. Givalou, D. Karonis, S. Stournas, Storage stability and ageing effect of biodiesel blends treated with different antioxidants, *Energy* 36 (2011) 369–374.
- [12] H. Tang, A. Wang, S.O. Salley, K.Y.S. Ng, The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 85 (2008) 373–382.
- [13] S.K. Loh, S.M. Chew, Y.M. Choo, Oxidative stability and storage behavior of fatty acid methyl esters derived from used palm oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 83 (2006) 947–952.
- [14] L.M. Das, D.K. Bora, S. Pradhan, M.K. Naik, S.N. Naik, Long-term storage stability of biodiesel produced from Karanja oil, *Fuel* 83 (2009) 2315–2318.
- [15] A. Obadiha, R. Kannan, A. Ramasubbu, S.K. Kumar, Studies on the effect of antioxidants on the long-term storage and oxidation stability of *Pongamia pinnata* (L.) Pierre biodiesel, *Fuel Processing Technology* 99 (2012) 56–63.
- [16] R.L. McCormick, M. Ratcliff, L. Moens, R. Lawrence, Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests, *Fuel Processing Technology* 88 (2007) 651–657.
- [17] A. Carelli, I. Franco, G. Crapiste, Effectiveness of added natural antioxidants in sunflower oil, *Grasas y Aceites* 56 (4) (2005) 303–310.

- [18] A.H. Barrett, W.L. Porter, G. Marando, P. Chinachoti, Effect of various antioxidants, antioxidant levels, and encapsulation on the stability of fish and flaxseed oils: Assessment by Fluorometric Analysis, *Journal of Food Processing and Preservation* 35 (2011) 349–358.
- [19] J. Irwandi, Y.B. Che Man, D.D. Kitts, J. Bakar, S. Jinap, Synergies between plant antioxidants blends in preventing peroxidation reactions in model and food oil systems, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77 (2000) 945–950.
- [20] M. Serrano, A. Bouaid, M. Martínez, J. Aracil, Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: influence of commercial additives and purification step, 2013. (Manuscript submitted for publication).
- [21] G. Vicente, A. Coteron, M. Martinez, J. Aracil, Application of the factorial design of experiments and response surface methodology to optimize biodiesel production, *Industrial Crops and Products* 8 (1998) 29–35.
- [22] M. Mittelbach, S. Schober, The influence of antioxidants on the oxidative stability of biodiesel, *Journal of the American Oil Chemists's Society* 80 (2003) 817–823.
- [23] R.O. Dunn, Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel), *Fuel Processing Technology* 86 (2005) 1071–1085.
- [24] Y. Liang, C. May, C. Foon, M. Ngan, C. Hock, Y. Basiron, The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm biodiesel, *Fuel* 85 (2005) 867–870.



Influence of blending vegetable oil methyl esters on biodiesel fuel properties: Oxidative stability and cold flow properties.

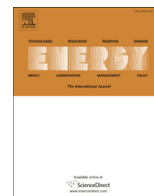
M. Serrano, R. Oliveros, M. Sánchez, A. Moraschini, M. Martínez, J. Aracil.

Energy 2014 (65) 109-115.

Factor de Impacto (2013): 4.159

Factor de Impacto 5 años (2013): 4.465

Citaciones: 12



Influence of blending vegetable oil methyl esters on biodiesel fuel properties: Oxidative stability and cold flow properties



Marta Serrano, Rubén Oliveros, Marcos Sánchez, Andrea Moraschini, Mercedes Martínez, José Aracil*

Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemistry, Complutense University, 28040 Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 April 2013

Received in revised form

19 November 2013

Accepted 25 November 2013

Available online 22 December 2013

Keywords:

Biodiesel blends

Fatty acids

Oxidation stability

Cold filter plugging point

ABSTRACT

Properties of biodiesel can be related to the chemical composition of the biomass source used in transesterification. Saturated fatty acids confer high oxidative stability, while unsaturated fatty acids improve the cold flow properties, which are also influenced by the chain length. In the present study, blends of biodiesel produced from different vegetable oils were evaluated in order to obtain the proper blend to fulfill the European Standard EN14214 in terms of oxidative stability and cold flow properties. Citric acid was used to purify the methyl ester phase. Oxidative stability resulted highly dependent on polyunsaturated fatty esters while fatty ester chain length is a determining factor in cold flow performance of the blends. A preliminary study of the effectiveness of a commercial additive (a Poly alkyl methacrylate) in improving methyl ester flow at low temperatures was done, but no significant changes were found.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Biodiesel is an alternative diesel fuel derived from vegetable oils or animal fats. Homogeneous based catalysis is currently used in the transesterification of oils and fats, and methanol is chosen among other short-chain alcohols. Biodiesel must ensure high quality parameters to develop its commercialization. These parameters are specified by several standards.

Fuel properties of biodiesel are mainly influenced by fatty acid profile of raw material. Vegetable oils used were basically composed by C16–C18 carbon chains with zero to three double bonds. The eighteen-carbon chain oleic acid contains one double bond, two for linoleic acid and three for the linolenic.

Cold flow properties are determined through three parameters: CFPP (cold filter plugging point), CP (cloud point) and PP (pour point). The first one, CFPP, is the lowest temperature at which fuel still flows through a specific filter. Cloud point is the temperature at which solid crystals are observed when the fuel cools. And the pour point refers to the lowest temperature at which fuel still flows when a container is tilted. The required value depends on the location and the season.

Saturated fatty esters have higher melting points than unsaturated and these values also increase with increasing chain length

[1]. Transesterification of highly saturated oils is expected to result in high CFPP values.

Biodiesel oxidative stability is the result of content and position of double bonds in the fatty acids, presence of anti and pro-oxidant substances, storage conditions, production technology used, etc. The latest version of the European Standard, EN 14214:2012 establishes a minimum IP (induction period) of 8 h, determined by means of Rancimat method.

Diesel fuel is more stable against oxidation than biodiesel, since diesel contains neither double bonds nor oxygen in its formulation.

The fatty acid oxidation is a classic free radical chain reaction. The olefinic compounds are easily attacked by the initiators and especially in the bis-allylic carbons (present in linoleic and linolenic acids) which are less stable than allylic carbons. Saturated raw materials lead to stable biodiesel, while mono and particularly polyunsaturated feedstocks lead to easily oxidizable biodiesel.

Among the most commonly used raw materials, various studies have been done in order to predict the optimum fatty acid profile that leads to high quality biodiesel. Knothe reported the properties of fatty acids and fatty esters of relevance to biodiesel. Chain length and degree of unsaturation of fatty acids and branching of the alcohol used in transesterification influenced the properties of resulted biodiesel [2]. Other studies investigated the fuel properties of biodiesel obtained by different feedstocks and related these parameters to their fatty acid composition [3,4].

* Corresponding author. Tel./fax: +34 91 394 4167.

E-mail address: jam1@quim.ucm.es (J. Aracil).

In order to improve the feasibility of biodiesel, a large and growing body of literature has investigated the transition to low-cost feedstocks, such as used frying oil [5,6], high free fatty acids oils [7] or waste from animal or vegetable oil processing operations [8].

The need to fulfill the biodiesel standards has led to make different approaches, such as the use of additives or blending with diesel fuel. In order to optimize the fatty acid profile that leads to a highly quality fuel, properties of blends of biodiesel from different feedstocks have been measured [9,10]. Sarin et al. investigated the effect of blending jatropha, palm and pongamia oil based biodiesel [11]. Moser measured fuel properties (cold flow properties, viscosity, acid and iodine value, and oil stability index) of binary, ternary and quaternary blends of biodiesel from 4 different vegetable oils [12].

The first aim of this study is to evaluate the oxidative stability and cold flow properties (in terms of CFPP) of biodiesel obtained by blending different vegetable oils; both properties are frequently limiting factors in biodiesel commercialization, and they are inversely dependent on the structure of fatty acids: oxidative stability of biodiesel decreases when increasing double bonds, while cold flow properties are improved. Carbon chain length has a positive influence on cetane number, but a negative impact on low temperature flow of biodiesel.

Most of the studies in blending biodiesel from different feedstocks have only focused on raw material with negligible proportions of low molecular weight fatty acids, C14 or less [13,14]. Vegetable oils with high content in short-chain saturated fatty acids, such as coconut and babaçu oils have been included to determine the influence of chain length on the cold flow properties of biodiesel blends. Finally, a preliminary study was done in order to determine the influence of a commercial additive on the CFPP of pure methyl esters.

2. Experimental

2.1. Materials

Soybean, rapeseed, high oleic sunflower and palm oils were supplied by Gracomsa Alimentaria (Valencia, Spain). Coconut and babaçu oils were supplied by Iberdrola S.A (Spain). Methanol of 99.8% purity was supplied by Cor Química (Spain). The catalyst used: potassium methoxide 32% purity was purchased from BASF Ibérica (Spain) and citric acid was provided by Sigma Aldrich (Spain). Table 1 shows the fatty acid composition of vegetable oils and some of their properties.

2.2. Equipment

Biodiesel was produced in a 2000 mL STR (stirred tank reactor). This reactor was provided with a jacket and a reflux condenser. Temperature and speed controllers were also used to maintain the operation conditions.

2.3. Procedure

Vegetable oil was added to the STR and preheated to the reaction temperature, 60 °C. The temperature was maintained below the boiling point of methanol to prevent methanol evaporation in the reactant mixture. Then, catalyst diluted in methanol was introduced in the reactor and mixed with the vegetable oil. The catalyst concentration was 1% and the methanol/oil ratio was 6:1. The impeller speed was set in 600 rpm and the reaction time was 1 h [15]. Once glycerin and methyl ester phases have been separated by decantation, the methyl ester phase was washed with slightly acidified distilled water. This washing method called “wet

Table 1

Fatty acid composition (wt %) and properties of vegetable oils.

Fatty acid (% wt)		Vegetable oil					
		Soybean	Rapeseed	High oleic sunflower	Palm	Babaçu	Coconut
Butiric	C4:0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0
Caproic	C6:0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.6
Caprilic	C8:0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.3	8.1
Caproleic	C10:0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8	6.0
Lauric	C12:0	0.0	0.0	0.0	0.1	40.0	47.2
Myristic	C14:0	0.3	0.1	0.0	2.5	14.9	19.2
Palmitic	C16:0	10.9	5.1	3.5	40.8	8.6	8.9
Palmitoleic	C16:1	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
Stearic	C18:0	3.2	2.1	3.1	3.6	3.4	2.8
Oleic	C18:1	24.0	57.9	82.7	45.2	13.6	5.9
Linoleic	C18:2	54.5	24.7	9.0	7.9	2.1	1.2
Linolenic	C18:3	6.8	7.9	0.1	0.0	0.0	0.0
Arachidic	C20:0	0.1	0.2	0.3	0.0	0.1	0.1
Gadoleic	C20:1	0.0	1.0	0.3	0.0	0.1	0.0
Behenic	C22:0	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0
Erucic	C22:1	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
Lignoceric	C24:0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0
Total saturated		14.5	7.5	7.9	47.0	84.2	92.9
Saturated C4:0–C14:0		0.3	0.1	0.0	2.6	72.1	81.1
Saturated C16:0–C24:0		14.2	7.4	7.9	44.4	12.1	11.8
Total unsaturated		85.3	91.7	92.2	53.1	15.8	7.1
Monounsaturated		24.0	59.1	83.1	45.2	13.7	5.9
Polyunsaturated (2,3)		61.3	32.6	9.1	7.9	2.1	1.2
Properties							
Acid number [g KOH/g]		0.18	0.17	0.24	0.17	0.30	0.24
Iodine number [gI ₂ /100g]		134	104	91	56	20	13
Peroxide number [meq/kg]		1.1	2.98	2.5	4.1	3.1	1.62

wash” is widely used; water is usually acidified in order to improve the impurities removal and minimize the volume of water required. The acidifier agent can be a strong acid, such as sulfuric or hydrochloric acid [16,17] or a weak acid, such as phosphoric or citric acid [18–20]. In the present study, 0.1 M citric acid solution was used since citric acid enhances the oxidative stability of biodiesel [21]. Washing process continued until a pH of about 7 was achieved. Finally methyl ester phase was distilled to remove water and methanol traces. Final water content resulted below 500 ppm.

Vegetable oil based methyl ester were analyzed and then mixed in different proportions in order to obtain blends with different fatty acid profiles. Blends were stored in 250 mL flasks and their oxidative stability and cold flow properties were analyzed.

2.4. Analytical method

The composition of methyl esters in biodiesel was analyzed by capillary column gas chromatography, using a Hewlett–Packard 5890 series II. Gas chromatography was performed on a fused-silica capillary column (OV–1.12 m × 0.31 mm i.d., 0.17 µm film). The detector was an FID type and the injection system split/splitless. The carrier gas was helium and the flow rate 0.65 mL/min. A Hewlett–Packard 3396A integrator was connected to the chromatograph. The analysis operating conditions have been described in detail by Vicente et al. in a previous work [15].

Other quality parameters were analyzed by means of the European Standard Test Methods: Acid value (EN14104), water content (EN ISO 12937), Iodine Value (EN 14111), Peroxide number (ASTM D3703) and kinematic viscosity (EN ISO 3104).

The oxidative stability of the samples, quantified as the Induction Period (*h*), was determined by means of the Rancimat method, in the conditions described in the standard EN 14112. The cold behavior of biodiesel samples was determined according to the standard EN 116 with the ISL CPP 97-2 automatic analyzer (ISL, France).

3. Results

Properties of methyl esters obtained from vegetable oils after purification were analyzed. Results for SBME (soybean), RME (rapeseed), HOSME (high oleic sunflower), PME (palm), BME (babaçu) and COME (coconut) oil based methyl esters are shown in Table 2.

Pure vegetable oil methyl esters were blended in different proportions in order to obtain an extended fatty esters profile to evaluate the influence of fatty acids on oxidative stability and cold flow properties of biodiesel.

Table 3 summarizes the CFPP and IP values for the blends used in this study. Samples were chosen in order to avoid redundancy while covering the widest range of results. For oxidative stability study 74 samples were used: 68 blends, plus 6 corresponding to pure methyl ester samples. For studying the influence on CFPP values, 54 results were used: 48 corresponded to methyl ester blends, plus the 6 pure methyl ester samples.

3.1. Oxidative stability

The pure methyl esters showed IP values according to their fatty acid profile. SBME showed the lowest oxidative stability, 6.0 h, due to its high content in polyunsaturated fatty acids (59.3%) while COME showed the highest IP value, 54.5 h.

The use of citric acid in the purification step of biodiesel resulted in higher oxidative stability of the samples, when compared to water washed sample [21]. Only SBME did not fulfill the current European Standard EN14214. Samples tested are shown in a ternary graph (Fig. 1), where the three axes designate the [SAT] (saturated), [MONOUNSAT] (monounsaturated) and [POLYUNSAT] (polyunsaturated fraction) of the sample. 74 points are represented; 6 correspond to pure methyl ester samples (SBME, RME, HOSME, PME, BME and COME) and 68 correspond to blends. The ternary graph displays values of IP using a gray-color scale. As it was expected, blends with high content in polyunsaturated acids show the lowest IP. As polyunsaturated fraction decrease, the oxidative stability of the samples gradually increases, especially when the saturated fraction enlarges with respect to monounsaturated fraction.

The resulting color graph reveals that the polyunsaturated fraction has the strongest influence on the oxidative stability of the samples [1,22].

The evolution of the IP can be expressed in terms of concentrations of saturated, mono and polyunsaturated fractions by the Eq. (1), using a multiple lineal regression function with an adjusted coefficient of determination (R^2_{adj}) of 0.88 and a RMSE (root mean squared error) of 4.9.

$$IP = 0.27 [SAT] + 0.13 [MONOUNSAT] - 0.09 [POLYUNSAT] \quad (1)$$

where [SAT], [MONOUNSAT] and [POLYUNSAT] are the content of the saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids (% wt), respectively. Eq. (1) is valid in the tested intervals: $7.2 \leq [SAT] \leq 92.9$; $5.9 \leq [MONOUNSAT] \leq 83.1$, and $1.2 \leq [POLYUNSAT] \leq 61.3$.

Saturated, mono and polyunsaturated fatty acids contents were also independently correlated with the induction period. As shown in Fig. 2, oxidative stability is directly related to polyunsaturated fraction, within the tested range by a potential Eq. (2) with a resulting R^2_{adj} of 0.91, and a RMSE value of 2.3. A very similar result was previously reported by Park et al. but the oxidation stability was then correlated to the polyunsaturated fraction by a lineal equation [23].

$$IP = 49.0 [POLYUNSAT]^{-0.50} \quad (1.2 \leq [POLYUNSAT] \leq 61.3) \quad (2)$$

It may be assumed that these results could change if the samples contain higher proportions in linolenic acid. The relative rates of auto-oxidation between oleic (C18:1), linoleic (C18:2) and linolenic (C18:3) acid based methyl esters are 1:41:98 [24]. In this study, the maximum linolenic acid content was 7.9%, and results were expressed in terms of total polyunsaturated fraction content (C18:2 and C18:3).

3.2. Cold filter plugging point

Three parameters are used to determine the cold flow properties of methyl ester: CFPP (Cold filter plugging point), CP (cloud point) and PP (pour point). Biodiesel standards do not specify a value for low temperature parameters; each country establishes a maximum value according to weather conditions. Highly saturated oils result in poor low temperature properties, since they show higher melting points than unsaturated materials. Experimental evidence shows that the length of carbon chain has a strong effect on cold flow properties of biodiesel.

As can be seen in Table 2, COME and BME show significantly lower CFPP values than PME, even though they are more saturated oils. The difference lies in the length of carbon chain of saturated fatty acids: palmitic acid, C16:0, is the main saturated fatty acid in palm oil while coconut and babaçu oils are mainly composed by lauric and myristic acids, C12:0 and C14:0, respectively. The longer the carbon chain, the higher the CFPP value [2,25].

In Fig. 3, the axes of the contour graph correspond to the saturated fraction composed by fatty acids with less than 16 carbons atoms ([SAT_{C4–C14}], from C4:0 to C14:0, mainly C12:0 and C14:0), the saturated fraction composed by fatty acids with 16 or more carbons atoms ([SAT_{C16–C24}], from C16:0 to C24:0, mainly C16:0 and

Table 2

Properties of methyl esters obtained from vegetable oils and limits fixed by European Standard EN 14214:2012. Operation conditions: catalyst concentration 1.5%, methanol/oil molar ratio 6:1 and operation temperature 60 °C.

Property	Limits		SBME	RME	HOSME	PME	BME	COME
	Min	Max						
Ester content (wt.%)	96.5		>97	>97	>97	>97	>97	>97
Acid value (mgKOH/g)		0.5	0.34	0.18	0.21	0.20	0.26	0.43
Water content (mg/kg)		500	<500	<500	<500	<500	<500	<500
Iodine value (gI ₂ /100g)		120 ^a	130	114	87	51	18	10
Peroxide number (meq/kg)			4.91	5.09	3.4	2.4	2.9	1.1
Induction period (h)	8.0		6.0	8.1	14.4	24.5	45.0	54.5
CFPP (°C)		0/–10 ^b	–4	–14	–6	13	–4	–7
Viscosity (mm ² /s)	3.5	5.0	4.8	4.6	4.9	4.9	3.1	2.8

^a RD 61/2006 (Spain) Iodine value max. 140 gI₂/100g.

^b Country specific. In Spain: CFPP max: 0 °C in summer (1st April–30th September), –10 °C in winter (1st October–31st March).

Table 3

Induction Period and CFPP values of the blended methyl esters.

Run	Methyl esters	Blend (% wt.)	Saturated fraction (% wt.)	Monounsatur (% wt.)	Polyunsatur (% wt.)	Saturated C4–C14 (% wt.)	Saturated C16–C24 (% wt.)	Unsaturated (% wt.)	Induction period (h)	CFPP (°C)
1	SBME–RME	90-10	16.0	27.8	56.2	0.1	15.9	84.0	6.3	
2		80-20	15.1	31.8	53.1	0.1	15.0	84.9	6.4	
3		70-30	14.1	35.8	50.1	0.1	14.1	85.9	7.1	
4		60-40	13.2	39.8	47.0	0.1	13.2	86.8	7.2	
5		20-80	9.6	55.7	34.7	0.1	9.5	90.4	8.0	
6	SBME–RME–PME	75-20-5	16.7	32.5	50.7	0.1	16.6	83.2	7.0	
7		20-70-10	13.9	53.2	32.9	0.2	13.7	86.1	8.6	
8		75-10-15	21.0	30.0	48.9	0.2	20.8	79.0	7.4	
9		20-60-20	18.2	50.7	31.2	0.3	17.9	81.8	9.0	
10		80-10-10	19.3	29.3	51.4	0.2	19.2	80.6		–1
11		60-10-30	26.1	32.2	41.7	0.4	25.7	73.9		3
12		50-20-30	25.2	36.2	38.6	0.4	24.8	74.8	8.6	
13	SBME–HOSME	70-30	14.5	41.7	43.8	0.1	14.4	85.5	7.7	
14		60-40	13.7	47.6	38.7	0.1	13.6	86.3	8.1	
15		20-80	10.5	71.4	18.1	0.0	10.5	89.5	11.8	–6
16		10-90	9.7	77.4	12.9	0.0	9.7	90.3	12.4	
17	SBME–HOSME–PME	80-15-5	17.4	33.5	49.1	0.1	17.3	82.6	7.2	
18		75-20-5	17.0	36.5	46.6	0.1	16.9	83.0	7.5	
19		60-30-10	17.9	43.1	39.0	0.2	17.7	82.1	8.1	
20		20-70-10	14.7	66.9	18.4	0.2	14.6	85.3	11.8	–6
21		65-20-15	20.4	37.9	41.7	0.2	20.1	79.6	7.6	
22		70-10-20	22.9	32.7	44.4	0.3	22.6	77.1	7.4	
23		50-20-30	25.4	40.1	34.4	0.4	25.1	74.6	9.1	
24		20-60-20	18.9	62.4	18.7	0.3	18.6	81.1	11.4	
25		20-50-30	23.1	58.0	19.0	0.4	22.7	76.9	11.9	3
26		5-55-40	21.9	66.9	11.3	0.4	21.5	78.1	14.4	
27		5-45-50	30.2	57.9	11.9	0.6	29.6	69.8	16.1	
28		5-15-80	38.6	49.0	12.5	0.8	37.8	61.4	18.0	
29	RME–BME	90-10	15.4	58.7	25.9	7.3	8.1	84.6	7.9	–14
30		80-20	23.0	53.7	23.3	14.5	8.6	77.0	8.7	–13
31		70-30	30.7	48.7	20.6	21.7	9.0	69.3	9.7	–9
32		60-40	38.3	43.7	18.0	28.9	9.5	61.7	11.1	–8
33		50-50	46.0	38.7	15.3	36.1	9.9	54.0	12.3	–7
34		40-60	53.6	33.7	12.7	43.3	10.3	46.4	14.1	–7
35		30-70	61.3	28.7	10.0	50.5	10.8	38.7	15.5	–6
36		20-80	68.9	23.7	7.4	57.7	11.2	31.1	19.1	–6
37		10-90	76.6	18.7	4.7	64.9	11.7	23.4		–5
38	SBME–RME–BME	85-10-5	19.3	27.3	53.4	3.7	15.7	80.7	6.7	–4
39		60-35-5	17.1	37.3	45.7	3.7	13.4	82.9		–6
40		80-10-10	22.7	26.8	50.5	7.3	15.4	77.3	6.6	–6
41		75-10-15	26.1	26.3	47.6	10.9	15.2	73.9		–6
42		70-10-20	29.4	25.8	44.8	14.5	15.0	70.6	6.6	–8
43		60-20-20	28.5	29.8	41.7	14.5	14.0	71.5	7.3	
44		60-10-30	36.2	24.8	39.1	21.7	14.5	63.8	7.9	–6
45		50-20-30	35.3	28.8	36.0	21.7	13.6	64.7	8.7	
46	SBME–COME	80-20	32.1	20.2	47.7	16.3	15.8	67.9	6.6	
47		70-30	39.7	18.5	41.9	24.4	15.3	60.3	7.2	
48		60-40	47.3	16.7	36.1	32.5	14.8	52.7	7.9	–3
49		50-50	54.9	14.9	30.2	40.6	14.3	45.1	9.1	–4
50		40-60	62.5	13.1	24.4	48.7	13.8	37.5	10.4	
51		30-70	70.1	11.3	18.6	56.8	13.3	29.9	12.9	–5
52		20-80	77.7	9.5	12.8	64.9	12.8	22.3	16.3	
53		10-90	85.3	7.7	7.0	73.0	12.3	14.7	19.3	–7
54	HOSME–COME	90-10	16.6	76.2	7.2	8.1	9.2	82.7	16.0	–9
55		80-20	25.7	67.8	6.4	16.3	9.5	74.3	16.0	–8
56		70-30	34.1	60.1	5.8	24.4	9.8	65.9	17.1	
57		60-40	42.5	52.3	5.1	32.5	10.1	57.5	18.4	–6
58		50-50	50.9	44.6	4.5	24.4	9.8	65.9	20.2	
59		40-60	59.3	36.9	3.8	32.5	10.1	57.5	21.3	
60		30-70	67.7	29.1	3.2	40.6	10.4	49.1	22.5	
61	SBME–HOSME–COME	50-30-20	29.7	38.1	32.2	48.7	10.6	40.7	8.5	
62		40-40-20	28.9	44.0	27.1	56.8	10.9	32.3	9.6	
63		10-40-50	63.4	29.9	6.7	16.3	13.4	70.3	17.0	
64		20-55-25	31.5	52.1	16.4	16.3	12.6	71.1	12.3	

Table 3 (continued)

Run	Methyl esters	Blend (% wt.)	Saturated (% wt.)	Monounsatur (% wt.)	Polyunsatur (% wt.)	Saturated C4–C14 (% wt.)	Saturated C16–C24 (% wt.)	Unsaturated (% wt.)	Induction period (h)	CFPP (°C)
65	COME–PME	80–20	84.5	12.4	3.1	65.1	19.4	15.5		–2
66		60–40	76.0	18.9	5.1	49.1	26.9	24.0		4
67		50–50	71.8	22.2	6.0	41.1	30.7	28.2		5
68		40–60	67.6	25.4	7.0	33.1	34.5	32.4		6
69		30–70	63.4	28.7	7.9	25.1	38.3	36.6		9
70		20–80	59.1	32.0	8.9	17.1	42.0	40.9		11
71		10–90	54.9	35.2	9.9	9.1	45.8	45.1		11
72	SBME–COME–PME	20–50–30	65.0	19.3	15.7	40.9	24.1	35.0	14.7	3
73		50–20–30	42.2	24.6	33.1	16.6	25.6	57.8	9.6	4
74		30–40–30	57.4	21.1	21.5	32.8	24.6	42.6	11.5	3
75		10–60–30	72.6	17.5	9.9	49.0	23.6	27.4	16.8	2
76		25–5–70	44.4	33.2	22.5	4.8	39.5	55.6	12.8	10
77		30–30–40	53.2	24.3	22.5	24.8	28.4	46.8		5
78		40–10–50	41.4	29.4	29.2	8.7	32.7	58.6	10.2	6
79		30–20–50	49.0	27.6	23.4	16.8	32.2	51.0	11.6	6
80		15–25–60	56.2	28.1	15.7	20.9	35.2	43.8	11.6	
81	HOSME–COME–PME	50–10–40	34.0	57.6	8.3	8.6	25.5	66.0		5
82		40–30–30	46.7	46.6	6.7	24.7	22.0	53.3		5
83		20–60–20	67.7	27.9	4.4	48.9	18.8	32.3		–2
84	SBME–PME	60–40	30.4	29.7	39.9	0.5	29.9	69.6		4
85		40–60	37.2	32.6	30.2	0.7	36.5	62.8		9
86		20–80	43.9	35.6	20.5	0.9	43.0	56.1		11
87	RME–HOSME	70–30	8.1	69.6	22.3	0.0	8.1	91.9	9.4	–11

C18:0) and the unsaturated fraction ([UNSAT]). In this case, 54 results are used: 6 from the pure biodiesels (SBME, RME, HOSME, PME, BME, and COME) and 48 from its blends. In the ternary contour graph, regions are divided according to the CFPP values. Only a few samples show values below -10°C ; they contain high proportions in RME. The chain length of the saturated fraction is a determining parameter in the cold flow properties of biodiesel. As expected, higher proportions of short chain fatty acids (C4–C14) result in lower CFPP values of biodiesel.

Ramos et al. determined Long Chain Saturated Factor B, a parameter that took into account the composition of saturated fatty acid granting a higher influence to the composition of long chain fatty acids. This parameter was then used to predict CFPP of biodiesel from the content of saturated fatty esters [3]. In the present study, based on the experimental data, CFPP values were correlated using a multiple linear Eq. (3), with R_{adj}^2 of 0.93, and a RMSE of 1.8.

$$\text{CFPP} (^{\circ}\text{C}) = 0 - 0.12 [\text{SAT}_{\text{C4–C14}}] + 0.47 [\text{SAT}_{\text{C16–C24}}] - 0.14 [\text{UNSAT}] \quad (3)$$

where $[\text{SAT}_{\text{C4–C14}}]$, $[\text{SAT}_{\text{C16–C24}}]$ and $[\text{UNSAT}]$ are the content of the short chain saturated, long chain saturated and unsaturated fatty acids (% wt), respectively. Eq. (3) is valid in the tested intervals: $0 < [\text{SAT}_{\text{C4–C14}}] \leq 81.1$; $7.4 \leq [\text{SAT}_{\text{C16–C24}}] \leq 44.4$, and $7.1 \leq [\text{UNSAT}] \leq 92.2$. CFPP value of 0°C was chosen as intercept: little amounts of long chain saturated fatty acids led to values above 0°C , whereas higher amounts of unsaturated and short chain saturated fatty acids were needed to produce a reduction of CFPP below 0°C .

As can be seen in Fig. 4, CFPP value can be correlated with $[\text{SAT}_{\text{C16–C24}}]$ by a potential equation (4).

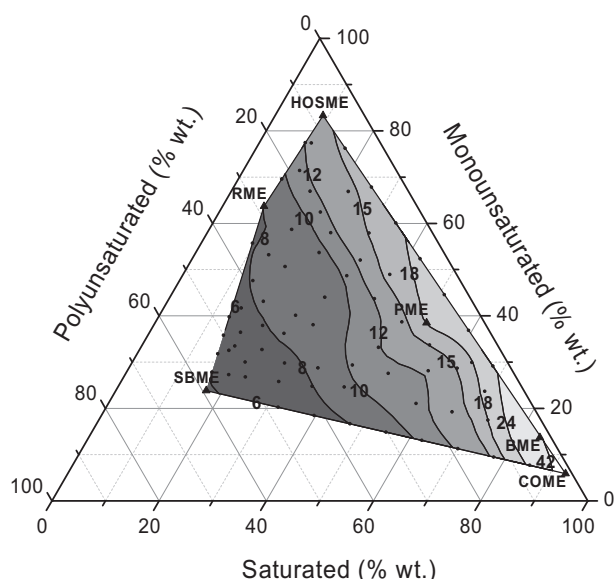
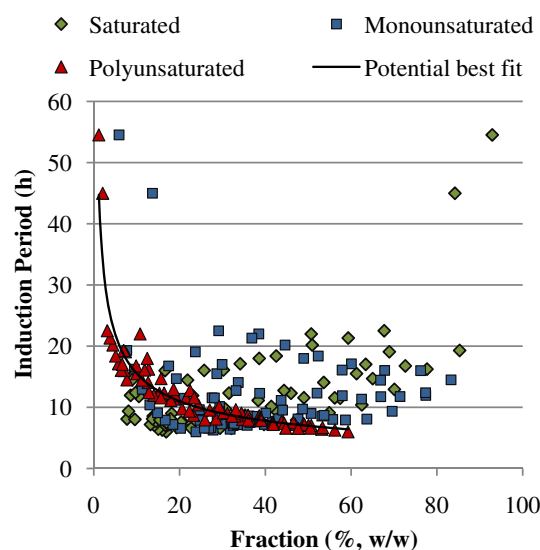
Fig. 1. Ternary contour graph for Induction Period values (h), $n = 74$.

Fig. 2. Induction Period (h) versus saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids content of biodiesel samples (% wt).

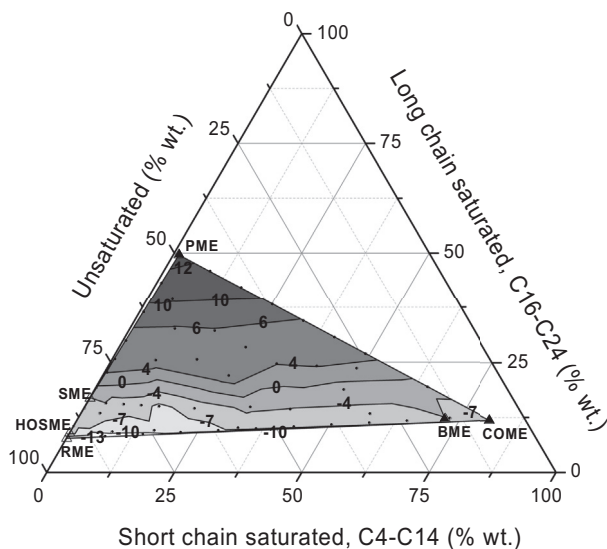


Fig. 3. Ternary contour graph for CFPP values (°C), $n = 54$.

$$\text{CFPP} (^{\circ}\text{C}) = -26 + 5.76 [\text{SAT}_{\text{C16-C24}}]^{0.5} \quad (7.4 \leq [\text{SAT}_{\text{C16-C24}}] \leq 44.4) \quad (4)$$

The value of R^2_{adj} was 0.95, and the RMSE was 1.6. Sarin et al. also found a high degree of correlation between CP and PP of biodiesel blends and their content in palmitic acid methyl ester [11].

When the content of C16–C24 saturated fraction was lower than 9%, CFPP values decreased rapidly. A similar result was previously obtained by Park et al. when palmitic methyl ester content of biodiesel was correlated with CFPP values [23].

3.3. Improvement of CFPP of pure biodiesel samples by use of a commercial additive

There are several approaches that can be made in order to improve the cold flow properties of biodiesel [14,26,27]. Additives for improving the cold flow performance of biodiesel have been

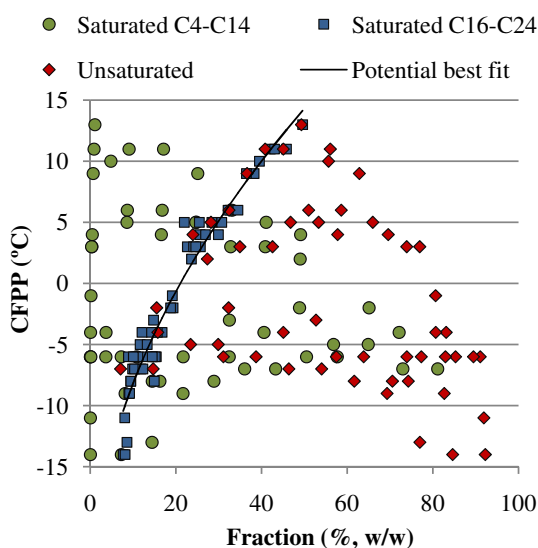


Fig. 4. CFPP values (°C) versus short chain saturated C4–C14, long chain saturated C16–C24 and unsaturated fraction of biodiesel (% wt.).

extensively studied. They are mainly composed by poly(maleic anhydride) copolymers, poly(vinyl acetate) copolymers and alkyl methacrylates copolymers [28].

When temperature falls, nucleation and crystallization processes take place. As crystals grow, they can block filters and lead to engine failures. Copolymers act by crystal modification: they inhibit the growth of the crystals, but without altering their initial formation [29].

In this study, a commercial PAM (poly(alkyl methacrylate)) copolymer has been used as an additive to improve the cold flow properties of biodiesel. Previous studies have considered the effect of PAM addition in the cold flow properties of several vegetable oils [30], mineral oil [31–33] and biodiesel [28,34].

Chen et al. reported no impact of PAM on the CFPP of soybean oil based biodiesel in the concentration range of 100–500 ppm [34]. Echim et al. tested several commercial cold flow improvers in pure and biodiesel blends. They reported different results depending on biodiesel feedstock, additive and added concentration [14].

Different additive concentrations (500, 1000, 2000, 3000 and 5000 ppm) were added to pure methyl ester samples. The mixtures were slightly heated and mixed to achieve a homogeneous distribution of the additive in the biodiesel sample. Fig. 5 shows the results obtained from the analysis of the additivated samples. No significant reduction in CFPP values of SBME, PME and RME was found with the cold flow improvers' addition. On the contrary, some samples showed higher CFPP when they were additivated.

The most significantly reduction of CFPP correspond to HOSME and COME. In HOSME, this value dropped from -6 to -11 °C with 5000 ppm of cold flow improver, while CFPP of COME dropped from -7 to -10 °C.

4. Conclusions

This article aims to provide a better understanding of feedstock influence on final product quality as a tool for the proper choice of raw materials for biodiesel production under different circumstances. In addition to the existing literature, this article emphasizes on the influence that oils with a majority composition of short fatty acid chains have on the final properties of biodiesel.

High polyunsaturated fraction resulted in low oxidative stability of biodiesel. As saturated fraction rose, IP of the blends also increased.

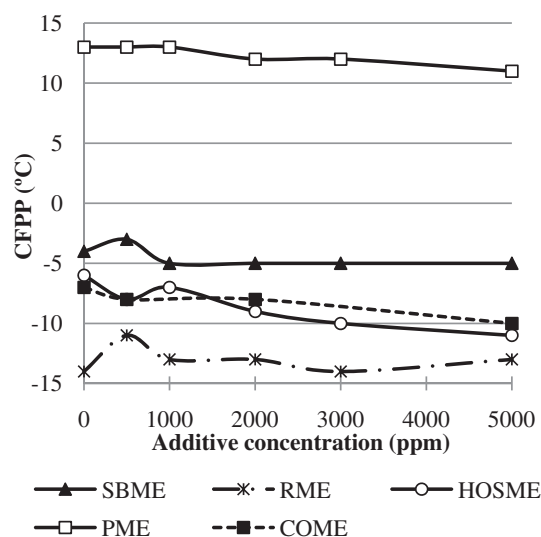


Fig. 5. Influence of pour point depressant on the CFPP of biodiesel from different feedstocks.

In order to evaluate the factors affecting the cold flow properties of biodiesel, the saturated fraction was differentiated into short chain (C4–C14) and long chain (C16–C24) fatty acids. CFPP decreased as the proportion of short chain fraction increased. On the other hand, the increase in unsaturated fraction resulted in lower values of CFPP.

A commercial additive was tested in pure biodiesel samples. Its effectiveness resulted dependant on the biodiesel sample and the dose added; no significant reductions of CFPP were found, except for HOSME and COME.

Mathematical models were obtained to predict the IP and CFPP values from the fatty acid profile of biodiesel. There was considerable agreement between the experimental data and the predicted values.

While double bonds render biodiesel less resistant to oxidation, their presence retards the crystallization process. The excessive use of palm oil would lead to a biodiesel with very poor cold flow properties, which may constrain its use. Similarly, the stability of biodiesel will be worsened by the use of high polyunsaturated oils, such as soybean oil. Blends rich in rapeseed oil showed the lowest CFPP values. Its oxidative stability resulted not far from the new requirement of 8 h. Coconut or babaçu oils have shown to be effective in enhancing biodiesel oxidation stability without compromising the CFPP of biodiesel. However, its use as feedstock has to be contextualized taking into account the price of raw material and additives for each region and time lapse.

Acknowledgments

Financial support from the (CICYT), Spanish project CTQ-2009-09-088 is gratefully acknowledged.

Nomenclature

[MONOUNSAT]	monounsaturated fatty acids content, % wt.
[POLYUNSAT]	polyunsaturated fatty acids content, % wt.
[SAT]	saturated fatty acids content, % wt.
[SAT _{C16–C24}]	saturated fatty acids content, C16–C24, % wt.
[SAT _{C4–C14}]	saturated fatty acids content, C4–C14, % wt.
[UNSAT]	unsaturated fatty acids content, % wt.
BME	babaçu methyl ester
CFPP	cold filter plugging point, °C
COME	coconut methyl ester
HOSME	high oleic sunflower methyl ester
IP	induction Period, h
PME	palm methyl ester
R ² _{adj}	adjusted coefficient of determination
RME	rapeseed methyl ester
RMSE	root mean squared error
SBME	soybean methyl ester

References

- [1] Knothe G. "Designer" biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy Fuel* 2008;22:1358–64.
- [2] Knothe G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Process Technol* 2005;86:1059–70.
- [3] Ramos MJ, Fernández CM, Casas A, Rodríguez L, Pérez A. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresour Technol* 2009;100:261–8.
- [4] Giakoumis EG. A statistical investigation of biodiesel physical and chemical properties, and their correlation with the degree of unsaturation. *Renew Energy* 2013;50:858–78.
- [5] Araujo VK, Hamacher S, Scavarda LF. Economic assessment of biodiesel production from waste cooking oils. *Bioresour Technol* 2010;101:4415–22.
- [6] Uzun BB, Kiliç M, Özbay N, Pütün AE, Pütün E. Biodiesel production from waste frying oils: optimization of reaction parameters and determination of fuel properties. *Energy* 2012;44(1):347–51.
- [7] Felizardo P, Machado J, Vergueiro D, Correia MJ, Gomes J, Bordado J. Study on the glycerolysis reaction of high free fatty acid oils for use as biodiesel feedstock. *Fuel Process Technol* 2011;92:1225–9.
- [8] Prussi M, Chiamonti D, Recchia L, Martelli F, Guidotti F, Pari L. Alternative feedstock for the biodiesel and energy production: the OVEST project. *Energy* 2013;58(1):2–8.
- [9] Sarin R, Sharma M, Sinharay S, Malhotra RK. Jatropha-Palm biodiesel blends: an optimum mix for Asia. *Fuel* 2007;86:1365–71.
- [10] Albuquerque MCG, Machado YL, Torres AEB, Azebedo DCS, Cavalcante CL, Firmiano LR, et al. Properties of biodiesel oils formulated using different biomass sources and their blends. *Renew Energy* 2009;34:857–9.
- [11] Sarin A, Arora R, Singh NP, Sarin R, Malhotra RK, Kundu K. Effect of blends of palm-jatropha-pongamia biodiesels on cloud point and pour point. *Energy* 2009;34:2016–21.
- [12] Moser B. Influence of blending canola, palm, soybean, and sunflower oil methyl esters of fuel properties of biodiesel. *Energy Fuel* 2008;22:4301–6.
- [13] Smith PC, Ngothai Y, Nguyen QD, O'Neill BK. Improving the low-temperature properties of biodiesel: methods and consequences. *Renew Energy* 2010;35:1145–51.
- [14] Echim C, Maes J, De Greyt W. Improvement of cold filter plugging point of biodiesel from alternative feedstocks. *Fuel* 2012;93:642–8.
- [15] Vicente G, Martínez M, Aracil J. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems. *Bioresour Technol* 2004;92:297–305.
- [16] Santori G, Di Nicola G, Moglie M, Polonara F. A review analyzing the industrial biodiesel production practice starting from vegetable oil refining. *Appl Energy* 2012;92:109–32.
- [17] Dias JM, Araújo JM, Costa FM, Alvim-Ferraz MCM, Almeida MF. Biodiesel production from raw castor oil. *Energy* 2013;53:58–66.
- [18] Berrios M, Skelton RL. Comparison of purification methods for biodiesel. *Chem Eng J* 2008;144:459–65.
- [19] Canoira L, Rodríguez-Gamero M, Querol E, Alcántara R, Lapuerta M, Oliva F. Biodiesel from low-grade animal fat: production process assessment and biodiesel properties characterization. *Ind Eng Chem Res* 2008;47:7997–8004.
- [20] Piacentini A, Niesner R, inventors; GMK, Method for the production of fuel from acid fats and system for carrying out said method. European Patent: EP 1448750 A1, 2004-08-25.
- [21] Serrano M, Bouaid A, Martínez M, Aracil J. Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: influence of commercial additives and purification step. *Fuel* 2013;113:50–8.
- [22] Zuleta EC, Rios LA, Benjumea PN. Oxidative stability and cold flow behavior of palm, sachai-chi, jatropha and castor oil biodiesel blends. *Fuel Process Technol* 2012;102:96–101.
- [23] Park JY, Kim DK, Lee JP, Park SC, Kim YJ, Lee JS. Blending effects of biodiesels on oxidation stability and low temperature flow properties. *Bioresour Technol* 2008;99:1196–203.
- [24] Gunstone FD. Oxidation through reaction with oxygen, in the chemistry of fats and oils by Gunstone, F.D. Oxford UK: Blackwell Publishing, CRC Press; 2004. pp. 150–68.
- [25] Hoekman SK, Broch A, Robbins C, Cenicerio E, Natarajan M. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. *Renew Sust Energy Rev* 2012;16:143–69.
- [26] Dunn RO, Shockley MW, Bagby MO. Improving the low-temperature properties of alternative diesel fuels: vegetable oil derived methyl esters. *J Am Oil Chem Soc* 1996;73:1719–28.
- [27] Kleinová A, Paligová J, Vrbová M, Mikulec J, Cvangros J. Cold flow properties of fatty esters. *Process Saf Environ Prot* 2007;85:390–5.
- [28] Chastek TQ. Improving cold flow properties of canola-based biodiesel. *Biomass Bioenergy* 2011;35:600–7.
- [29] Chiu C, Schumacher LG, Suppes GJ. Impact of cold flow improvers on soybean biodiesel blend. *Biomass Bioenergy* 2004;27:485–91.
- [30] Asadauskas S, Erhan SZ. Depression of pour points of vegetable oils by blending with diluents used for biodegradable lubricants. *J Am Oil Chem Soc* 1999;76:313–6.
- [31] Soldi RA, Oliveira A, Barbosa R, César-Oliveira M. Polymethacrylates: pour point depressants in diesel oil. *Eur Polym J* 2007;43:3671–8.
- [32] Liesen GP, Srinivasan S. Dispersant (meth) acrylate copolymers having excellent low temperature properties. US Patent: 6323164 B1, 2000-11-01.
- [33] Kuzmic AE, Radosevic M, Bogdanic G, Srica V, Vukovic R. Studies on the influence of long chain acrylic esters polymers with polar monomers as crude oil flow improver additives. *Fuel* 2008;87:2943–50.
- [34] Chen B, Sun Y, Fang J, Wang J, Wu J. Effect of cold flow improvers on flow properties of soybean biodiesel. *Biomass Bioenergy* 2010;34:1309–13.



Biodiesel production from waste salmon oil: kinetic modeling, properties of methyl esters, and economic feasibility of a low capacity plant.

M. Serrano, J.M. Marchetti, M. Martínez, J. Aracil.

Biofuels, Bioproducts and Biorefining 2015, 9 (5) 516-528.

Factor de Impacto (2014): 4.263

Factor de Impacto 5 años (2014): 5.910

Citaciones: 0

Biodiesel production from waste salmon oil: kinetic modeling, properties of methyl esters, and economic feasibility of a low capacity plant

Marta Serrano, Complutense University, Madrid, Spain

Jorge-Mario Marchetti, Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway

Mercedes Martínez, José Aracil, Complutense University, Madrid, Spain

Received March 3, 2015; revised March 18, 2015; accepted March 19, 2015

View online April 27, 2015 at Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com);

DOI: 10.1002/bbb.1561; *Biofuels, Bioprod. Bioref.* 9:516–528 (2015)

Abstract: Salmon oil directly obtained from salmon silage in a tricanter centrifuge was subjected to homogeneous acid-catalyzed esterification. Alcohol-to-oil molar ratio, catalyst amount, and reaction temperature were varied in order to obtain the kinetic parameters that fit the data satisfactory. A reaction mechanism with four consecutive reactions was considered and the attack of the nucleophile alcohol to the protonated carbonyl substrate was corroborated to be the rate-determining step, in accordance with previous studies in free fatty acids esterification. A kinetic model with 8 independent parameters described with high accuracy the experimental data of 27 reactions with a regression coefficient of 90.94%. Pre-esterified oil was submitted to transesterification and properties of resulting methyl esters were measured. Acidity, peroxide value, viscosity and flash point were acceptable to use as diesel-grade fuel. However, cold flow properties and especially oxidative stability can limit its use as automotive fuel. Finally, a techno-economic analysis was performed and the influence of salmon oil price on the viability of a low capacity fuel production plant was analyzed. © 2015 Society of Chemical Industry and John Wiley & Sons, Ltd

Keywords: biodiesel; salmon oil; esterification; kinetic modeling; economic

Introduction

Waste biomass is currently under consideration in the search for new energy sources. Vegetable sources have broadly demonstrated to be a suitable raw material for diesel-equivalent fuel production. Nevertheless, questions have been raised about the drawbacks of the large-scale use of vegetable oils as an energy source. The loss of arable land, the counter effects resulting from the change of land use, and the high dependence on fossil fuels for cultivation and transport process are, among many others, important issues that should be considered. As a response to this issue, waste cooking oil and biomass from animal sources are being widely studied. Biofuels obtained from waste or by-products present a better energy balance than those obtained from primary sources such as agricultural crops, since the energy consumption is imputable to collection fees and to the adjustment of raw materials during processing.

In this context, the recycling of leftovers from fish-processing factories can be an opportunity for onsite processing to meet internal energy demand.¹ Oil can be directly used as heating fuel in boilers or furnaces but researchers have recently shown an increasing interest in obtaining fuel for transportations purposes.^{2–4} Besides the type of fish used, the different methods of extraction of oil from fish by-products will determine the yield and quality of the oil.⁵ Extraction methods can be roughly classified into physical, chemical, and biological processes. Physical extraction is mainly done by cooking the product (with or without water), and separating the oil via centrifugation or pressing. Chemical methods are basically extraction with solvents, especially non-polar solvents in which oils are highly soluble. Inside biological methods, ensiling is a common process to stabilize salmon by-products. Formic acid and mineral acids are used to maintain a pH of 3.5–4. At this value, the proteins become soluble and by-products autolyze without spoiling. The oil released from the flesh tissues rises to the surface of the mixing tank.⁶ Hydrolysis can be also carried out by exogenous enzymes from animal, plant, or microbial sources.^{7,8}

Some pilot trials have been implemented in fish-processing factories. Jayasinghe and Hawboldt¹ published a complete review of the used of fish-processing waste in bio-oils production. Most of the leftovers generated are not recovered from fish-processing effluents. The residues are dumped in the ocean and, if fish is processed on shore, the solids are sent to landfills.^{9,10} In the project developed by Aquafinca (Honduras), oil was recovered from wastes in tilapia processing and was used in fishmeal production

and biodiesel production.¹¹ The Sybimar Oy company (initially named Rovina Oy) produces biodiesel from rainbow trout guts, collected all over Finland.¹² In Norway, Rubin ruled a project whose main objective was to estimate the quantity of by-products from Norwegian fisheries and to collect data of the final destination of waste.¹⁰

Waste cooking oil and biomass from animal sources are considered low-grade raw materials due, among other reasons, to the high content in free fatty acids (FFAs), which interferes in the base catalyzed transesterification of oils to alkyl-esters. Heterogeneous basic catalyst can be converted to soap when they are used with high acidic oil.¹³ One of the possible alternatives is an acid esterification of FFAs, previous to a base-catalyzed transesterification.¹⁴ High activity, great density of acid sites per gram, and cheaper price make inorganic acids commonly used as catalysts in the industry.¹⁵ Heterogeneous acids are susceptible to deactivation in the presence of water and they require high reaction temperatures to reach high FFA conversions. Major advances have been done in recent years in heterogeneous catalysis for simultaneous esterification and transesterification. Bifunctional solids with both acid and basic sites can lead to high conversions at lower temperatures.¹⁶

The aim of this paper is to develop a kinetic model which accurately describes the homogeneous acid-catalyzed of salmon oil directly obtained from salmon silage in a tri-canter centrifuge in a fish-processing factory in Norway. Catalyst concentration, temperature, and methanol-to-oil molar ratio were varied.

After acid oil esterification, the non-acidic oil was subjected to a homogeneous base-catalyzed transesterification in order to analyze fuel properties of the resulting methyl esters.

Finally, a preliminary techno-economic analysis of a biodiesel plant was done in order to evaluate the feasibility of a processing plant which uses oil recovered from fish-processing plants. The aim of this analysis is not to provide a thorough economic evaluation but to identify the importance of the raw material price on economic and energetic viability of the process.

Experimental

Materials

Esterification experiments were done at the Department of Mathematical Science and Technology of the NMBU (Ås, Norway) while transesterification and oil and methyl esters analysis were carried out at the Chemical Engineering Department of the UCM (Madrid, Spain).

Waste salmon oil was kindly supplied by Akva-Ren NA (Furuflaten, Norway). It was obtained from salmon silage in a tricanter centrifuge and was directly used in the experiments without any refining process. Ensilaging method uses strong acid to preserve the waste. Methanol of 99.8% purity was supplied by Sigma Aldrich (Oslo, Norway). The catalyst used in the esterification reaction was sulfuric acid 95–98% purity, purchased from Sigma Aldrich (Oslo, Norway).

Transesterification reaction was carried out in Spain. The catalyst used, potassium methoxide (32% purity) was purchased from BASF Ibérica (Madrid, Spain), methanol of 99.8% was supplied by Cor Química and citric acid was provided by Sigma Aldrich (Madrid, Spain).

Equipment and procedure

Esterification of salmon oil was carried out in a lab-scale reactor provided with a warming jacket and magnetic stirrer. Reactions were carried out at 314, 323, and 332 K, with methanol-to-oil molar ratio 3:1, 6:1, and 9:1 and catalyst concentration values of 1, 3, and 5% wt.

Oil (100 mL) was first added to the reactor and preheated at the corresponding reaction temperature. Catalyst diluted in methanol was then introduced in the reactor. The stirring speed was set at 300 rpm. A previous study on FFA esterification reported no effect on the reaction rate due to mass transfer limitations if values are above 300 rpm.¹⁷ Samples of approximately 3–4 mL were taken for quantitative measurements of the FFA conversion. In order to stop the reaction and remove methanol and catalyst, distilled water was added to the samples and they were then centrifuged 20 min at 1500 rpm to improve the separation of the phases. Acid value of the upper phase was measured according to the method described in the *Analytical method* section. In order to assure the complete removal of methanol, distilled water was added to a sample of mixed oil and methanol and it was centrifuged under the same conditions. The reported acid value was equal to that of the oil; therefore, sulfuric acid and methanol resulted completely separated from oily phase after centrifugation.

Transesterification was performed in a 2000-mL STR (stirred tank reactor). Esterified salmon oil was firstly added to the reactor and preheated to 332 K. Reactor was equipped with a jacket and a reflux condenser in order to avoid possible methanol losses through evaporation. Methanol in a molar ratio 6:1 referred to oil, and potassium methylate, in 1% wt. were formerly mixed, and added to the reactor when the reaction temperature was reached.

After glycerol removal by decanting, the methyl ester phase was divided in two fractions: one was washed with distilled water, while the other fraction was washed with a citric acid solution (0.1 M). The aim was to compare the oxidative stability of the samples, since it had been previously reported that the use of citric acid as a washing agent improved the Rancimat oxidation stability of the methyl esters, even after long-term storage, and minimized the required amount of water.^{18,19} After the washing process, both fractions were distilled to remove methanol and water traces.

Analytical method

For the kinetic study of the fish oil esterification, a total of 27 reactions were used in this study. For each experiment, samples of 3–4 mL were taken until 180 min of reaction. The upper phase separated according to the method described in the *Equipment and procedure* section, was then analyzed. A weighted amount of the sample was dissolved in 10 mL of a mixture of ethanol and diethyl ether, 50% vol. The acidity was measured by means of a titration method with a 0.02 N solution of KOH and phenolphthalein as indicator. The acidity of the mixing solvent had been previously measured in order to avoid consider it in the oil acidity measure. FFA content of the samples was obtained by dividing the acid value by 2.

Reaction products after transesterification were identified by capillary column gas chromatography, using a Hewlett-Packard 5890 series II equipped with a flame ionization detector (FID). The analysis operating conditions have been widely described elsewhere.²⁰

Properties of raw oil and methyl esters were obtained by means of the European Standard Test Methods: Acid value (EN 14104), Iodine Value (EN 14111), Peroxide number (ASTM D3703), kinematic viscosity (EN ISO 3104), Flash Point (EN ISO 3679), water content (EN ISO 12937), Oxidation stability (EN 14112) and Cold Filter Plugging Point (EN 116). The identification and quantification of fatty acids in salmon oil was carried out by gas chromatography-flame ionization detection (GC-FID) according to the EN ISO 5508. Table 1 shows the fatty acid composition of salmon oil and some properties.

Results

Kinetic study of the esterification

Table 2 shows the 27 experiments conducted to obtain the kinetic model and the FFA conversion at 180 min. As shown in Fig. 1, the catalyst amount had a positive

Table 1. Fatty acid composition and properties of waste salmon oil used in this study.

Fatty acid (% wt)	
C14:0	2.74
C16:0	9.73
C16:1	2.9
C18:0	2.58
C18:1	36.86
C18:2	12.5
C18:3	4.43
C20:1	4.3
C20:2	1.1
C20:5	3.09
C22:1	1.45
C22:5	1.48
C22:6	4.88
Others (<1%)*	11.96
Properties	
Free fatty acids (wt. %)	8.37
Density (kg/m ³)	910
Iodine value (gI ₂ /100g)	133
Peroxide number (meq/kg)	5.94
Kinematic viscosity (mm ² /s)	33.61
Cold filter plugged point (°C)	6
*Total sum of other fatty acids which are present in less than 1% wt.	

influence on FFA conversion when it was increased from 1 to 3%. However, conversion values with 5% were not higher than those obtained with 3%. The effect of catalyst percent resulted similar for all temperatures and methanol-to-oil molar ratios.

Setting the catalyst percent at 3% and the methanol-to-oil molar ratio at 6, the effect of the temperature is shown in Fig. 2. The temperature had a positive effect on FFA conversion, but there were almost no difference between performing the reaction at 323 or 332 K. At lower methanol-to-oil molar ratios, FFA conversion was highly dependent on the reaction temperature and there were a significant increase when the reaction was carried out at 332 K. Finally, the influence of methanol amount was studied by setting the catalyst percent at 3% and the reaction temperature at 323 K (Fig. 3). The influence was high especially at the beginning of the reaction. At higher reaction time, conversion values at methanol-to-oil ratios of 3:1 approached the values obtained with a molar ratio 9:1. At lower temperatures and lower catalyst

concentrations, the influence of molar ratio became more significant.

The proposed kinetic mechanism was developed by Straiweiser *et al.*, and it is the accepted mechanism in esterification of carboxylic acids.²¹ The complete mechanism is formed by six reversible elementary consecutive reactions. The first stage is the capture of a hydrogen ion from concentrated sulfuric acid to form a protonated carboxylic substrate. In the second step, methanol, a highly nucleophile, reacts with the protonated substrate and a tetrahedral intermediate is formed. Consecutive desorption and adsorption of a proton lead to the formation of two other intermediates. In the fifth and sixth steps, water is formed and the loss of a proton gives the ester product and the regeneration of the acid catalyst.

In the present study, a four-stage approach of the mentioned mechanism was adopted. The reaction scheme is shown in Fig. 4.

Some assumptions were done in order to simplify the kinetic modeling. Esterification reaction takes place in the oil phase and mass transfer limitations were negligible.²² Although numerous studies have considered, for example, the simultaneous transesterification of triglycerides into methyl esters²³ and possible sulfuric acid alkylation,²⁴ these reactions were not considered in the present study. One reaction was carried out in catalyst absence at the most favorable conditions (332 K and 9:1 methanol-to-oil molar ratio). It can be assumed that the esterification reaction does not take place in catalyst absence.

Numerous studies have revealed that the rate-determining step is the attack of the nucleophile alcohol coming from the bulk phase to the protonated carbonyl substrate to generate the tetrahedral intermediate, Step (2).^{21,25,26} By assuming that this reaction is the rate-determining stage, the expressions for the reaction rate of FFAs can be obtained. They are showed in Table 3. Since the molecular pathway is single site, the expression for the catalyst concentration can be also obtained from the total site balanced.²⁶

To facilitate the kinetic parameters estimation, only the main rate constants were considered to be influenced by temperature, and energies of activation and pre-exponential factors were obtained from the Arrhenius equation. The rest of the constants, considered as adsorption equilibrium constants, were grouped together, denoted by K_i and shorter expressions were obtained. The mathematical model used to obtain the parameters of the equation is a multiparametric non-linear regression based on the Marquardt algorithm. The kinetic parameters obtained are reported in Table 4.

Table 2. Experiments performed for kinetic modeling of salmon oil esterification.

Experiment	Temperature (K)	Methanol: oil (molar ratio)	Catalyst Percent (%)	FFA Conversion (%)
1	314	3:1	1	64.47
2	314	3:1	3	76.54
3	314	3:1	5	80.54
4	314	6:1	1	83.37
5	314	6:1	3	85.41
6	314	6:1	5	92.09
7	314	9:1	1	81.1
8	314	9:1	3	93.22
9	314	9:1	5	92.6
10	323	3:1	1	79.89
11	323	3:1	3	86.02
12	323	3:1	5	83.06
13	323	6:1	1	81.14
14	323	6:1	3	91.29
15	323	6:1	5	92.38
16	323	9:1	1	94.21
17	323	9:1	3	93.6
18	323	9:1	5	95.01
19	332	3:1	1	75.17
20	332	3:1	3	88.77
21	332	3:1	5	85.7
22	332	6:1	1	94.29
23	332	6:1	3	91.33
24	332	6:1	5	94.11
25	332	9:1	1	94.9
26	332	9:1	3	92.71
27	332	9:1	5	93.91

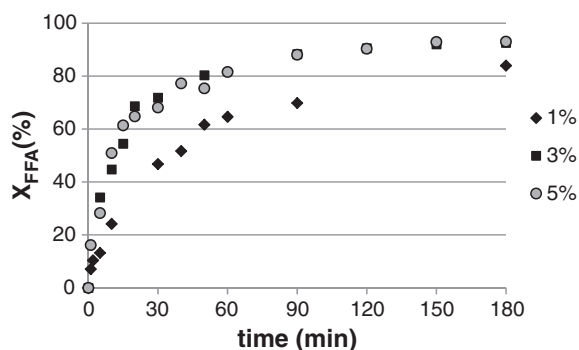


Figure 1. Effect of the catalyst concentration on FFA conversion. Operation conditions: temperature = 323 K and methanol to oil molar ratio = 6:1.

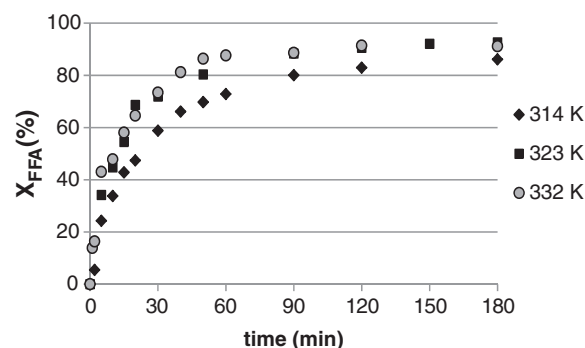


Figure 2. Effect of the reaction temperature on FFA conversion. Operation conditions: catalyst concentration = 3% wt and methanol to oil molar ratio = 6:1.

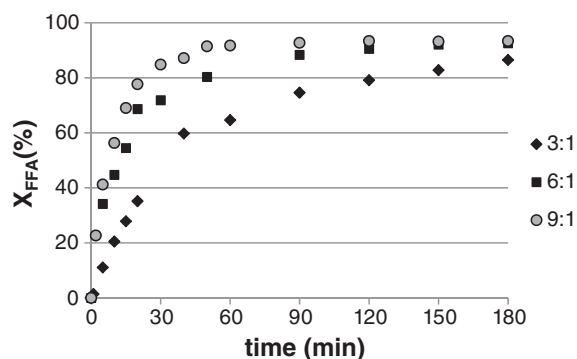


Figure 3. Effect of methanol to oil molar ratio on FFA conversion. Operation conditions: temperature = 323 K and catalyst concentration = 3% wt.

The residual sum of squares is $2.18 \cdot 10^{-1}$, the standard error of the estimate is $2.47 \cdot 10^{-2}$, and the regression coefficient is 90.94%. The model predicts the data very satisfactorily. The activation energy predicted remained within the range of reported results.^{22,23,27–29} Figure 5 shows some of the tested reactions and the curve resulted from the kinetic model.

The high viscosity of the oil and the limited miscibility of the methanol and the oil render very important the agitation of the reaction mixture, since mass transfer limitations can occur. The binary systems FFA-oil and FFA-methanol are completely miscible; however oil-methanol is partially miscible.²⁹ Miscibility of the ternary system oil-FFA-methanol increased with temperature and FFA

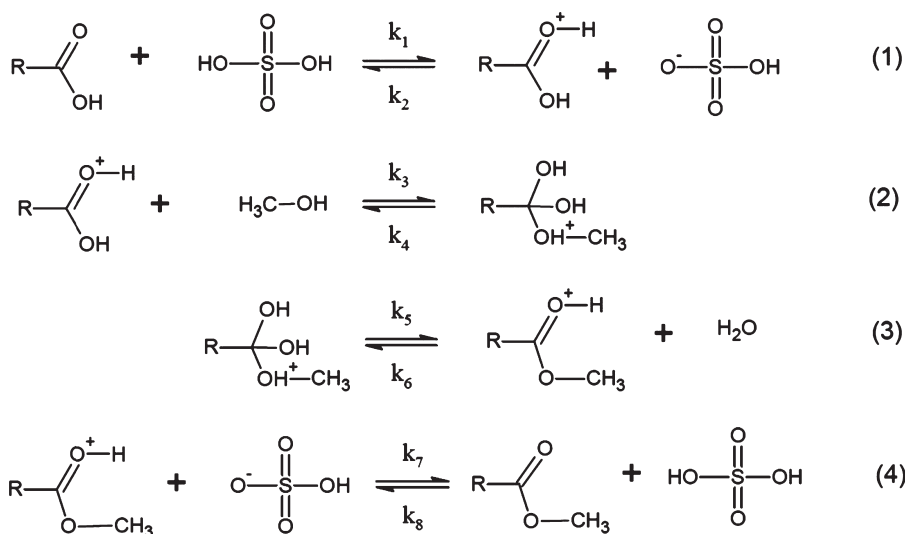


Figure 4. Reaction scheme for the esterification of FFAs with methanol.

Table 3. Mathematical expressions of the kinetic model. C_A : free fatty acids concentration, C_M : methanol concentration, C_E : methyl ester concentration, C_W : water concentration. All in mol/l. m : catalyst concentration, m_0 : initial catalyst concentration, in kg/l.

Expressions for reaction rate and catalyst concentration

Rate reaction

$$-\frac{dC_A}{dt} = m \cdot \left[k_3 \cdot \frac{k_1}{k_2} \cdot C_A \cdot C_M - \left(k_4 \cdot \frac{k_6}{k_5} \cdot \frac{k_8}{k_7} \cdot C_E \cdot C_W \right) \right]$$

Catalyst balance

$$m = \frac{m_0}{1 + \frac{k_1}{k_2} \cdot C_A + \frac{k_6}{k_5} \cdot \frac{k_8}{k_7} \cdot C_E \cdot C_W + \frac{k_8}{k_7} \cdot C_E}$$

New expressions after grouping the non-temperature dependent constants

$$-\frac{dC_A}{dt} = m \cdot [k_3 \cdot K_1 \cdot C_A \cdot C_M - (k_4 \cdot K_2 \cdot C_E \cdot C_W)]$$

$$K_1 = \frac{k_1}{k_2}$$

$$m = \frac{m_0}{1 + K_1 \cdot C_A + K_2 \cdot C_E \cdot C_W + K_3 \cdot C_E}$$

$$K_2 = \frac{k_6 \cdot k_8}{k_5 \cdot k_7}$$

$$K_3 = \frac{k_8}{k_7}$$

Table 4. Kinetic parameters. E_{a3} , E_{a4} : activation energy for direct and reverse reaction. $k_{3\infty}$, $k_{4\infty}$: pre-exponential factor of Arrhenius equation for direct and reverse reaction.

Parameter	Units	Value
E_{a3}	cal/(mol·K)	7991
E_{a4}	cal/(mol·K)	407
$k_{3\infty}$	l/(kg·min)	76190
$k_{4\infty}$	l·mol/(kg·min)	$1.54 \cdot 10^6$
K_1	l/mol	18.12
K_2	l ² /mol ²	$1.06 \cdot 10^{-5}$
K_3	l/mol	58.09

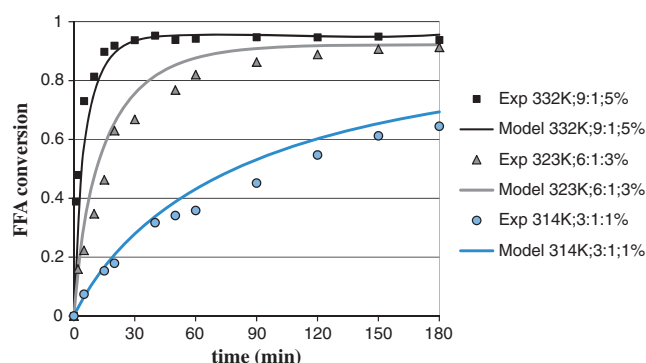


Figure 5. Experimental and predicted FFA conversion.

proportion. All experiments were carried out with the same agitation speed, enough to avoid mass transfer limitations. The reaction of FFAs was found to be an instantaneous reaction, without any induction period, which is in consistence with those of Liu *et al.*³⁰

Properties of methyl esters

Fuel properties of the resulting methyl esters are highly influenced by the fatty acid profile of the oil.^{31–34} Unsaturated fatty esters will lead to a more oxydizable products than the saturated ones. But saturated methyl esters have higher melting points, and these values also increase with increasing chain length. Viscosity increases with increasing chain length and decreases with the presence and number of unsaturations. The properties of salmon-oil-based methyl esters and other oils with high content in unsaturated fatty acids are shown in Table 5.

Kinematic viscosity of methyl ester is one order of magnitude lower than that of the oil, which assures the easy atomization of the fuel into the combustion chamber.³⁸ The measured value ($4.55 \text{ mm}^2/\text{s}$ at 40°C) is consistent with earlier observations from others studies. Reyes and Sepúlveda measured the viscosity of biodiesel from waste non-refined salmon oil and the resulted value was $4.96 \text{ mm}^2/\text{s}$.³⁹ Yahyaee *et al.* analyzed the properties of methyl esters from fish oil separated from fish wastes and the kinematic viscosity was $4.21\text{--}4.72 \text{ mm}^2/\text{s}$ at 40°C .⁴⁰

Table 5. Properties of salmon oil methyl esters and some methyl esters from raw materials with high degree of unsaturation.

		Salmon	Soybean ¹⁸	Salmon ³⁵	Linseed ³⁵	Trout ³⁵	Camelina ³⁶	Annona ³⁷
Fatty acid (% wt)	Saturated	16.2	14.6	21.7	7.9	17.4	8.63	24.15
	Monounsaturated	46.11	24	43.9	14.2	45.7	32.96	38.58
	Polyunsaturated (2,3 double bonds)	23.25	61.3	15.8	77.9	16.9	54.73	37.28
	Polyunsaturated (>3 double bonds)	9.45	0	18.6	0	16.9	1.47	0
Properties	Free fatty acids (wt.%)	0.23	0.08	0.08	0.13	0.21	0.08	0.15
	Density (kg/m ³)	891	889	894	895	886	888	871
	Iodine value (gI ₂ /100g)	135	130	145	203	137	152	99
	Peroxide number (meq/kg)	16.12	4.91	–	–	–	–	–
	Kinematic viscosity (mm ² /s)	4.55	4.8	4.8	–	–	4.3	4.4
	Cold filter plugged point (°C)	–7	–4	–	–	–	–4	–5
	Cloud point (°C)	–6	2	–	–	–	0	1
	Flash point (°C)	175	161	170	170	172	152	–
	Induction Period (h)	0.95 ^a 0.91 ^b	2.85	–	0.1	0.7	1.3	1.17

^aMethyl ester washed with distilled water. ^bMethyl ester washed with citric acid solution.

García-Moreno *et al.* measured the viscosity of methyl esters obtained from fish oil containing 90% of salmon oil and 10% of a mixture of other fish oil, at different reaction temperatures, time and methanol to oil molar ratios.² Reported values varied from 6.05 to 6.66 mm²/s at 30°C, so it can be expected that these values decreased at 40°C.

The cold filter plugging point (CFPP) is defined as the lowest temperature at which fuel still flows through a specific filter and cloud point (CP) is the temperature at which solid crystals are observed when the fuel cools. The high value of CFPP and CP, -7 and -6°C, respectively, can limit their use as transportation fuels, but alternative uses can be considered, as heating fuels or in stationary engines. Previous studies have reported CFPP values of methyl esters produced from different sources considered by-products. Echim *et al.* measured the CFPP of biodiesel from alternative feedstocks such as jatropha oil (0°C), tallow (from 10 to 14°C) and chicken fat (3°C).⁴¹ Altun and Lapuerta determined the CFPP of methyl esters from leather fat (11°C) and waste anchovy fish (4°C).⁴² Chiuo *et al.* examined the properties of methyl esters from salmon oil and this value oscillates between -6.3 and -7.7°C.⁴³ Compared to other animal and vegetable sources, salmon oil led to methyl esters with better performance at low temperatures.

In the European Union and several other European countries, the EN 590 specifies the properties that automotive diesel fuels must meet. The maximum content in fatty acid methyl esters is fixed at 7% (v/v). Moser measured the cold flow properties of B1 to B5 blends of different methyl esters with ultra-low sulphur diesel fuel (with CFPP of -17°C). It was reported that the methyl esters composition (which mainly determines CFPP value) has minimal impact on cold flow properties at blend levels up to 5% (v/v).⁴⁴

The requirements in terms of cold flow properties of diesel fuel are established by each country. For moderate climate, six climatic classes are defined (from A to F), whereas for arctic climate five classes are defined (from 0 to 4). Birkavs *et al.* investigated the influence of mixing fatty acid methyl esters with arctic diesel.⁴⁵ The CFPP value of arctic diesel class 2 (-32°C minimum CFPP) and class 0 (-20°C minimum CFPP) changed in the average by 0.7% with every fuel mix percentage (up to 7%).

Degradation of the methyl esters depends on the unsaturation degree, but it can be also promoted by contact with air, light, metal traces or by the presence of impurities with pro-oxidative effect. Peroxide value resulted higher in the methyl ester sample than in the oil sample. Measured values were 5.94 and 16.12 meq/kg for oil and methyl

esters, respectively. Shativil *et al.* studied the influence of extraction methods on fish oil properties.⁴⁶ Samples obtained by methods that involved heating the oil showed higher peroxide values. It can thus be suggested that lipids suffered degradation in the conversion to methyl esters, since they were subjected to high temperatures especially during the drying step.

In previous papers, the use of a citric acid solution as a washing agent of methyl ester phase increased the oxidative stability of different vegetable-oil-based biodiesel samples. However, there were no significant differences between the induction period measured for water-washed (0.95 h) and citric-acid-washed samples (0.91 h) from salmon oil. This may be due to the lately stage of the degradative process of the oil and the inability of antioxidant substances to improve the quality of a deteriorated lipid system. Salmon oil was not stored at the appropriate conditions and methyl esters were obtained after 8 months of the reception of the oil. Yet García-Moreno *et al.* reported values from 1.05 to 2.22 h, so the low value determined in the present study may be mainly due to the fatty acid composition of salmon oil. The polyunsaturated fatty acids fraction is relatively low compared to other oils such as soybean or linseed oil (Table 5). The content of highly unsaturated fatty acids, such as linoleic (C18:3), eicosapentaenoic (C20:5), docosapentaenoic (C22:5), and docosahexaenoic (C22:6), is a determinant factor on oxidative stability. The fatty acid oxidation is a classic free radical chain reaction and especially bis-allylic carbons (present in polyunsaturated fatty acids) are easily attacked by the initiators. The relative rate of oxidation for unsaturated C18 fatty acids is: 1 for stearic acid (C18:0), 100 for oleic acid (C18:1), 1200 for linoleic acid (C18:2) and 2500 for linolenic acid (C18:3).⁴⁷ The reactivity of docosahexaenoic acid (C22:6) is 5 times higher than that of linolenic acid.⁴⁸ Oxidation of lipids also occurs during post-mortem storage and handling of the fish. Ferrous iron associated to hemoproteins or enzymes is released during processing or storage.⁴⁹ Oil recovered from fish silage is expected to be protein free, but still some metals can be present in the oil. Yin *et al.* studied the effect of extraction methods on physical and chemical properties of red salmon oil. Regardless of the method used, minerals were found in all the extracted oil samples. Their concentration depended on the oil-extraction method, but the most abundant were Ca, Fe, K, Mg, P, and Na.⁵⁰ Among these minerals, iron is an effective catalyst of the lipid oxidation. A significant increment of FFA content as a result of hydrolysis of acylglycerols has been reported.⁵¹ However, acidity of the oil was continuously measured all

over the period of the research duration (7 months), and the acid value of the oil remained constant. Secondary oxidation compounds (aldehydes and ketones) can also react with amines, which result in an unpleasant odor of the oil. Processing of marine oils leads to the removal of impurities responsible of product degradation and unattractive color or taste. FFAs, trace metals, pigments, polycyclic aromatic hydrocarbons, etc., can be removed by several techniques such as degumming, neutralization, or deodorization of the oil. These processes are needed when a food-grade product is required. However, the fish oil used in the present study was not subjected to any refining process since it was recovered for energy purposes. Some precautions should be taken in storage process. Exposure to air, light, high temperatures and metals from construction materials should be minimized in order to prevent fish oil oxidation. The use of exogenous antioxidants can improve oxidation stability. Companies that commercialize methyl esters from fish oil add additives such as hindered phenol-based antioxidants to obtain a product more stable against oxidation.¹²

Direct use of fish oil in diesel engines can cause problems derived from low lubricity, high viscosity, bad cold flow properties and high acidity.⁵² Turning it into methyl esters, some of these problems can be solved. But still the performance in cold weather and resistance against oxidation are the major constraints for using pure methyl esters as diesel substitute.

Economic analysis of a waste-salmon-oil-based biodiesel plant

The capacity of the plant was fixed at 1000 ton/year. Andersen and Weinbach estimated a total amount of 505 kt. by-products from fish in Norway.¹⁰ Considering an average fat content of 20%, this amount would correspond to 100 kton of fat and oil. In the present study, the capacity was chosen according to existing plants which operate with leftovers generated in fish-processing factories and to the annual capacity of the oil supply company.^{11,12,53}

Figure 6 shows the process flow diagram. The oil with high content in FFAs is fed to the first reactor, together with methanol and sulfuric acid. After FFA esterification, the low acid oil is washed and passed through a decanter in order to separate sulfuric acid and non-reacted methanol. The stream is then transesterified with methanol and K-methylate. A sedimentation step is placed between the two transesterification reactors, in order to eliminate glycerol produced in the first reactor and achieve a high conversion in the second one (99.5%). The methyl ester phase is purified with slightly acid water (citric acid solution 0.1 M), and then fed to a flash column to remove water and methanol. Glycerol phase is also dried by flash distillation. Methanol is recovered from several streams by distillation and recycled to the beginning of the process.

The ASPEN PLUS (2007) process simulation software was employed to design the separation processes involved

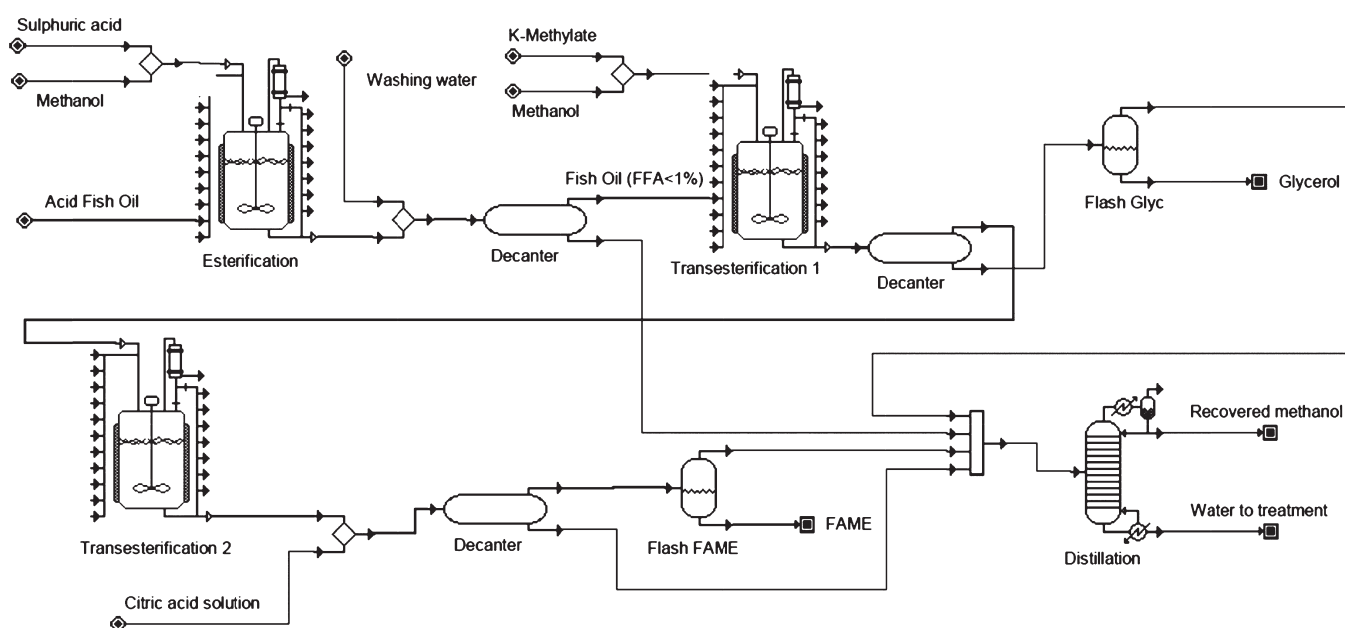


Figure 6. Process flow diagram.

in the biodiesel production: water removal from biodiesel in the flash tank, water and methanol removal from glycerol in the flash tank, and methanol recovering in the distillation tower. The outflow from the esterification reactor, continuous stirred tank reactor (CSTR), was calculated based on the kinetic model obtained in the first part of this study. The streams leaving the two transesterification reactors (both CSTR) were calculated according to a previously obtained kinetic model.⁵⁴

Another process simulator, SuperPro (2003) was employed to design the process and to estimate the investment required and the total cost of the production. The cost of the plant is divided into investment costs and operating costs.

The small capacity of the designed plant rendered difficult the estimation of the purchasing price of the equipment. The consulted methods cannot be applied since they are not valid for such small equipment and most of the studies reference much higher capacity plants.⁵⁵ Finally, the purchasing price of the equipment was estimated based on the data provided by Kenkel *et al.* for a biodiesel plant with a similar capacity.⁵⁶ This value was corrected to the current value of money and annual indexes of the chemical engineering plant cost index (CEPCI) were used to update the costs to 2014. Storage tanks were not included in the total purchasing cost of equipment.

Direct and indirect costs were obtained as fractions of the cost of the delivered equipment. In the estimated direct fixed capital are included: purchase cost of main equipment (CSTR, decanters, flash, distillation columns, etc.), installation, piping, instrumentation, building, insulation, electrical and auxiliary facilities, yard improvement and installation derived costs. The indirect cost includes engineering and construction costs, and other costs are defined by contractors' fee and contingency.

Only the biodiesel stream was considered as a revenue stream. Treatment or disposal fees of effluents, such as water stream leaving the bottom of the distillation column, were not taken into account. Life cycle of the plant was assumed to be 15 years and operate at 100% of its capacity. No loans or royalties were considered in the economic study and the depreciation of the plant is estimated to be constant. The tax value was considered as 40%. No tax incentives were considered. In the specific case of Norway, biodiesel was exempt from fuel tax and CO₂ charges until 2009.⁵⁷

The economic indicators resulting from applying the considerations listed above are summarized in Table 6. The price of raw material is not showed in the table because a sensitivity analysis was done in order to evaluate

the influence of the price of salmon oil on the economic feasibility of the plant. The purchasing price of the fish oil was changed from US\$0.26 to 0.76 per liter. The maximum price was fixed based in the selling price from the fish-processing factory that supplied the oil used in the kinetic modeling of the esterification process. Salmon-oil-based methyl esters selling price was fixed on 1.43 \$/liter.

Results of the sensitivity analysis are shown in Fig. 7. It is obvious that a decrease on the feedstock price will result in an increase of the net present value (NPV), which is a parameter used to measure the value of future cash flows, and a reduction in payback time. El-Mashad *et al.* performed an economic analysis to compare the cost of salmon-oil biodiesel with that of soybean-oil biodiesel. In 2008, the price of salmon oil was around 950 US\$/ton, which resulted in a cost of biodiesel almost twice than that of soybean oil biodiesel (1.07\$/l compared to 0.53\$/l for soybean biodiesel).³

Table 6. Summary of fixed and operating costs.

Fixed costs	\$
Equipment purchase cost	327,000
Total direct cost	1,012,000
Indirect cost	607,000
Other cost	243,000
Direct fixed capital	1,862,000
Total capital investment	1,967,000
Operating costs	\$
Facility	351,962
Labor	552,000
Utilities	43,013

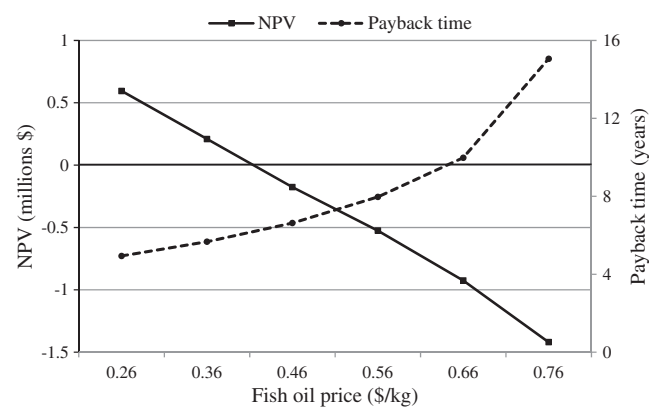


Figure 7. Sensitivity analysis: NPV and payback time as function of the fish oil price.

These data must be interpreted with caution because there are many other factors that were not considered in the study. The location of the feedstock is decisive in the final production cost. In this particular case, a by-product of salmon processing is proposed here as a feedstock for fuel production. The collection cost of waste salmon oil is therefore key to making the process financially and energetically viable. The wide spread of the by-products, both geographically and temporally, makes these factors a major source of uncertainty in the method used to calculate the economic analysis of the plant. Araujo *et al.* showed the high relevance of logistics in the total biodiesel production cost.⁵⁸ Besides, an energy-intensive process to extract the oil from salmon waste can also render the overall process non-viable. Extraction yields will vary depending on the method used and the species of fish.

The low capacity of the plant is also a drawback, since the capital cost is high compared to larger capacity plants.⁵⁹ However, the distribution of energy production by locating small facilities close to the source of waste can make them more cost effective.

Some energy saving measures can be adopted, for example, the residual heat from dry methyl ester phase after flash drying, can be used to preheat the oil before entering to the esterification or transesterification reactor. In the process design, glycerol phase was purified until 80% value of purity and it may be sold as crude glycerol so the income revenue would increase. Raw glycerol has a stable price, which is less than one-third of the cost of purified glycerol.⁶⁰ However, the process required to transform crude glycerol into refined glycerol is energy intensive and may be unaffordable for small-to-medium-scale biodiesel plants. The total outflow of glycerol was 100 kt/year. The rapid increase in biodiesel production has led to a high surplus of glycerol to such an extent that, even being raw material for over 2000 industrial uses, glycerol is often considered as a waste product. But the glycerine market is expected to recover in the ensuing years.⁶¹

Conclusions

The FFAs in salmon oil were esterified and a pseudo-homogeneous kinetic model was applied. Reaction temperature, methanol to oil ratio and catalyst amount were varied and the parameters of the equation were obtained with a satisfactory accuracy ($R^2 = 0.909$).

A homogeneous base-catalyzed transesterification was carried out with the non-acidic oil and methyl ester properties were analyzed. Among the analysis conducted,

viscosity, acid value and flash point met the minimal requirements for using as transport fuel. Compared to other animal and vegetable sources, salmon oil led to methyl esters with better performance at low temperatures (CFPP of -7°C). Induction period measured was 0.95 h, probably due to the high content in polyunsaturated fatty acids of salmon oil. Use of additives or blend it with petroleum-diesel fuel can lead to a better quality product.

Finally, the economic balance of a biodiesel plant that operates with 1000 ton/year of waste salmon oil was completed. The feasibility of the proposed plant is mainly limited by the price of salmon oil. Revenues from crude glycerol, lower taxes, or tax incentives may increase the feasibility of the process.

Acknowledgements

Financial support from the NILS Mobility Grants 009-ABEL-CM-2013 is gratefully acknowledged. The authors gratefully acknowledge Akva-Ren AS for the fish oils samples, and would like to thank Universidad Complutense de Madrid and the Norwegian University of Life Sciences for their financial support.

References

1. Jayasinghe P and Hawboldt K, A review of bio-oils from waste biomass: Focus on fish processing waste. *Renew Sust Energy Rev* **16**:798–821 (2012).
2. Garcia-Moreno PJ, Khanum M, Guadix A and Guadix EM, Optimization of biodiesel production from waste fish oil. *Renew Energy* **68**:618–624 (2014).
3. El-Mashad HM, Ruihong Z and Avena-Bustillos R, A two-step process for biodiesel production from salmon oil. *Biosystems Eng* **99**:220–227 (2008).
4. Martins GI, Secco D, Rosa HA, Bariccatti RA, Dolci BD, Melegari de Souza S *et al.*, Physical and chemical properties of fish oil biodiesel produced in Brazil. *Renew Sust Energy Rev* **42**:154–157 (2015).
5. Adeoti IA and Hawboldt K, A review of lipid extraction from fish processing by-product for use as a biofuel. *Biomass Bioenergy* **63**:330–340 (2014).
6. FAO, *Salmon by-Products Proteins*, FAO Fisheries Circular No. 1027. FAO, Rome (2007).
7. Linder M, Fanni J and Parmentier M, Proteolytic extraction of salmon oil and PUFA concentration by lipases. *Mar Biotechnol* **15**:70–76 (2005).
8. Rubio-Rodríguez N, de Diego SM, Beltrán S, Jaime I, Sanz MT and Rovira J, Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods. *J Food Eng* **109**:238–248 (2012).
9. Jayasinghe P and Hawboldt K, Biofuels from fish processing plant effluents – waste characterization and oil extraction and quality. *Sust Energy Technol Assess* **4**:36–44 (2013).
10. Andersen O and Weinbach JE, Residual animal fat and fish for biodiesel production. Potentials in Norway. *Biomass Bioenergy* **34**:1183–1188 (2010).

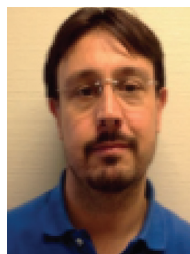
11. Piccolo T, *Framework analysis of fish waste to biodiesel production–AquaFinca*, case study. MBA project, Honduras (2003).
12. Enerfish, *Integrated Renewable Energy Solutions for Seafood Processing Stations*, feasibility study. Enerfish, Espoo, Finland (2012).
13. Soares AP, Puna J, Neiva MJ, Nogueira I, Gomes J and Bordao J, Effect of the oil acidis on the methanolysis performances of lime catalyst biodiesel from waste frying oils (WFO). *Fuel Process Technol* **116**:94–100 (2013).
14. Jayasinghe TK, Sungwornpatansakul P and Yoshikawa K, Enhancement of pretreatment process for biodiesel production from jatropha oil having high content of free fatty acids. *Int J Energy Eng* **4**:118–126 (2014).
15. Sanz M, Murga R, Beltran S, Cabezas J and Coca J, Autocatalyzed and ion-exchangeresin-catalyzed esterification kinetics of lactic acid with methanol. *Ind Eng Chem Res* **41**:512–517 (2002).
16. Borges ME and Díaz L, Recent developments on heterogeneous catalysts for biodiesel production by oil esterification and transesterification reactions: A review. *Renew Sust Energy Rev* **16**:2839–2849 (2012).
17. Farag HA, El-Maghraby A and Taha NA, Optimization of factors affecting esterification of mixed oil with high percentage of free fatty acid. *Fuel Process Technol* **92**:507–510 (2011).
18. Serrano M, Bouaid A, Martínez M and Aracil J, Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: Influence of commercial additives and purification step. *Fuel* **113**:50–58 (2013).
19. Serrano M, Martínez M and Aracil J, Long term storage stability of biodiesel: Influence of commercial additives and purification step. *Fuel Process Technol* **116**:135–141 (2013).
20. Vicente G, Martínez M and Aracil J, Integrated biodiesel production: A comparison of different homogeneous catalysts systems. *Bioresource Technol* **92**:297–305 (2004).
21. Streitwieser A, Heathcock CH and Kosower EM, *Introduction to Organic Chemistry*. Macmillan NY, London (1985).
22. Berrios M, Siles J, Martín MA, Martín A, A kinetic study of the esterification of free fatty acids (FFA) in sunflower oil. *Fuel* **86**:2383–2388 (2007).
23. Marchetti JM, Pedernera MN and Schbib NS, Production of biodiesel from acid oil using sulfuric acid as catalyst: Kinetics study. *Int J Low Carbon Technol* **6**:38–43 (2011).
24. Pisarello ML, Dalla B, Mendow G and Querini CA, Esterification with ethanol to produce biodiesel from high acidity raw materials. Kinetic studies and analysis of secondary reactions. *Fuel Process Technol* **91**:1005–1014 (2010).
25. Tesser R, Casale L, Verde D, Di Serio M and Santacesaria E, Kinetics of free fatty acids esterification: Batch and loop reactor modelling. *Chem Eng J* **154**:25–33 (2009).
26. Liu Y, Lotero E and Goodwin JG Jr, Effect of water on sulfuric acid catalysed esterification. *J Mol Catal A Chem* **245**:132–140 (2006).
27. Satriana D and Supardan MD, Kinetic study of esterification of free fatty acid in low-grade crude palm oil using sulfuric acid. *ASEAN J Chem Eng* **8**:1–8 (2008).
28. Thiruvengadaravi KV, Nandagopal J, Sathya Selva Bala V, Dinesh Kirupha S, Vijayalakshmi P and Sivanesan S, Kinetic study of the esterification of free fatty acids in non-edible Pongamia pinnata oil using acid catalyst. *Ind J Sci Technol* **2**:20–24 (2009).
29. Sendzikiene E, Makareviciene V, Janulis P and Kitrys S, Kinetics of free fatty acids esterification with methanol in the production of biodiesel fuel. *Eur J Lipid Sci Technol* **106**:831–836 (2004).
30. Liu CY and Li RJ, Engine performance and emission characteristics of marine fish-oil biodiesel produced from the discarded parts of marine fish. *Fuel Process Technol* **90**:883–888 (2009).
31. Knothe G, Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Process Technol* **86**:1059–1070 (2005).
32. Ramos MJ, Fernández CM, Casas A, Rodríguez L and Pérez A, Influence of fatty acid composition of raw material on biodiesel properties. *Bioresource Technol* **100**:261–268 (2009).
33. Hoekman SK, Broch A, Robbins C, Cenicerros E and Natarajan M, Review of the biodiesel composition, properties, and specifications. *Renew Sust Energy Rev* **16**:143–169 (2012).
34. Dunn RO, Shockley MW and Bagby MO, Improving the low-temperature properties Of alternative diesel fuels: Vegetable oil derived methyl esters. *J Am Chem Soc* **73**:1719–1728 (1996).
35. Vauhkonen V, Niemi S, Hiltunen E, Salminen HJ and Pasila A, The first generation biodiesel: The effects of raw material on physical properties, oxidation stability and emissions, in *International Conference on Clean Electrical Power*, Italy, pp. 117–123 (2009).
36. Ramos MJ and Pérez A, Biodiesel from Camelina sativa: A comprehensive characterisation. *Fuel* **105**:572–577 (2013).
37. Costa Branco P, Castilho P, Rosa MF and Ferreira J, Characterization of *Annona cherimola* Mill. Seed Oil from Madeira Island: A possible biodiesel feedstock. *J Am Oil Chem Soc* **87**:429–436 (2010).
38. Knothe G and Steidley KR, Kinematic viscosity of biodiesel fuel components and related compounds. Influence of compound structure and comparison to petrodiesel fuel components. *Fuel* **84**:1059–1065 (2005).
39. Reyes JF and Sepúlveda MA, PM-10 emissions and power of a Diesel engine fuelled with crude and refined Biodiesel from salmon oil. *Fuel* **85**:1714–1719 (2006).
40. Yahyaee R, Ghobadian B and Najafi G, Waste fish oil biodiesel as a source of renewable fuel in Iran. *Renew Sust Energy Rev* **17**:312–319 (2013).
41. Echim C, Maes J and De Greyt W, Improvement of cold filter plugging point of biodiesel from alternative feedstocks. *Fuel* **93**:642–648 (2012).
42. Altun S and Lapuerta M, Properties and emission indicators of biodiesel fuels obtained from waste oils from the Turkish industry. *Fuel* **128**:288–295 (2014).
43. Chiou BS, El Mashad HM, Avena-Bustillos RJ, Dunn RO, Bechtel PJ, McHugh TH et al., Biodiesel from waste salmon oil. *ASABE* **51**:797–802 (2008).
44. Moser BR, Impact of fatty ester composition on low temperature properties of biodiesel-petroleum diesel blends. *Fuel* **115**:500–506 (2014).
45. Birkavs A, Birzietis G and Dukulis I, Investigation of impact of biofuel blend on arctic diesel fuel properties. *Energ Rural Dev* **27**:158–161 (2010).
46. Shativil S, Yin H, Prinyawiwatkul W and King JM, Comparisons of chemical and physical properties of catfish oils prepared from different extracting processes. *J Food Sci* **74**:E70–E76 (2009).
47. Bockisch M, *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press, Champaign, IL, pp. 53–120 (1993).

48. Kulås E, Olsen E and Ackman RG, Oxidation of fish lipids and its inhibition with tocopherols, in *Lipid Oxidation Pathways*, ed. by Kamal-Eldin A. AOCS Press, Champaign, IL (2003).
49. Erickson MC, Lipid oxidation of muscle foods, on *Food Lipids, in Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, ed. by Akoh CC and Min DB. Marcel Dekker Inc, New York, pp. 365–411 (2002).
50. Yin H, Solval KM, Huang J, Betchel PJ and Shativil S, Effects of oil extraction methods on physical and chemical properties of red salmon oils (*Oncorhynchus nerka*). *J Am Oil Chem Soc* **88**:1641–1648 (2011).
51. Hulting HO, Oxidation of lipids in seafoods, in *Seafoods. Chemistry, processing, technology and quality*, ed. by Shahidi F and Botta JR. Blackie Academic and Professional, Suffolk, Great Britain, pp. 49–74 (1994).
52. Ushakov S, Valland H and Æsøy V, Combustion and emissions characteristics of fish oil fuel in a heavy-duty diesel engine. *Energ Convers Manage* **65**:228–238 (2011).
53. Kallio M, Pure vegetable oil, status report of Finland. Jyväskylä, VTT. *Agri Energ* **2**:10–13 (2010).
54. Vicente G, Martínez M, Aracil J and Esteban A, Kinetics of sunflower oil methanolysis. *Ind Eng Chem Res* **44**:5447–5454 (2005).
55. Turton R, Bailie RC, Whiting WB and Shaeiwitz JA, *Analysis, Synthesis, and Design of Chemical Processes*, 3rd edition. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ (2009).
56. Kenkel P and Holcomb R, Feasibility of on-farm or small scale oilseed processing and biodiesel production, in *Proceedings of the Transition to a Bio Economy: Integration of Agricultural and Energy Systems Conference*, ed. by English B, Menard R and Jenson K. Farm Foundation, Oak Brook, IL, pp. 49–54 (2008).
57. Olsen DS, Klitkou A and Eerola A, *Analysis of Biofuels Policy in the Nordic Countries. Contribution to TOP NEST WP3*. Nordic Energy Research (2013).
58. Araujo VK, Hamacher S and Scavarda LF, Economic assessment of biodiesel production from waste frying oils. *Bioresour Technol* **101**:4415–4422 (2010).
59. Duncan J, *Costs of Biodiesel Production*. 1st edition. [ebook] United States: Energy Efficiency and Conservation Authority 2003.
60. Ayoub M and Abdullah AZ, Critical review on the current scenario and significance of crude glycerol resulting from biodiesel industry towards more sustainable energy industry. *Renew Sust Energ Rev* **16**:2671–2686 (2012).
61. Quispe C, Coronado C and Carvalho J Jr, Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renew Sust Energ Rev* **27**:475–493 (2013).



Marta Serrano

Mrs Marta Serrano is a researcher from the Chemical Engineering Department in the Complutense University in Madrid (Spain). She is in the last year of her PhD, which main subject is the oxidative stability of biodiesel and the use of non-edible oils and by-products in biofuels production. She has been working at the Department of Mathematical Science and Technology, in the NMBU in Ås (Norway), where part of the present research was conducted.



Jorge Mario Marchetti

Dr. Jorge Mario Marchetti is an Associate Professor at the Norwegian University of Life Science working on renewable energy topics with special interest in liquid alternatives. His work is mainly focus on the production of liquid alternative fuels using from waste materials via green processes as well as on bio-refinery topics for upgrade of biomass into more valuable components. His work is also related to the upscaling, modelling and economical analysis of different production process in several different scales.



Mercedes Martínez

Dr. Martínez is a Chemical Engineering Professor in the Complutense University in Madrid (Spain) and co-director of the Laboratory of Design, Optimization and Scale Integrated Processes. She has been a visiting professor in the Cambridge University (UK). She is an expert in Chemical Engineering, Green Chemistry, Renewable Energies, optimization of industrial products which substitute fossil derived materials and Biorefineries.



José Aracil

Dr. Aracil is a Chemical Engineering Professor in the Complutense University in Madrid (Spain) and codirector of the Laboratory of Design, Optimization and Scale Integrated Processes. He has been a visiting professor in the Cambridge University (UK) and the UNAM (Mexico). He is an expert in Chemical Engineering, Green Chemistry, Technological Development and Biodiesel Production using vegetable oils and non-edible oils.

COMUNICACIONES A CONGRESOS RELACIONADAS CON EL PRESENTE TRABAJO



Título: *Oxidation stability of biodiesel: Influence of purification step and fatty acid composition.*

Autores: Marta Serrano, Marcos Sánchez.

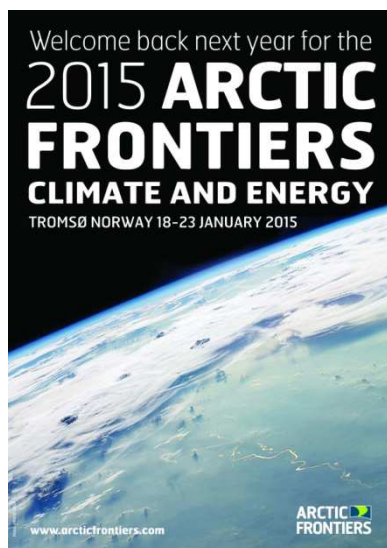
Congreso: Green Process Engineering.

Ámbito: Internacional

Lugar: Sevilla, España.

Fecha: Abril 2014.

Tipo de comunicación: presentación oral.



Título: *Diesel Fuel from waste salmon oil.*

Autores: Marta Serrano.

Congreso: Arctic Frontiers. Climate and Energy.

Ámbito: Internacional

Lugar: Tromsø, Noruega.

Fecha: Enero 2015.

Tipo de comunicación: poster.

PATENTES RELACIONADAS CON EL PRESENTE TRABAJO



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

Título: Purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos mediante lavado con disolución cítrica para uso como combustible.

Inventor/es: J. Aracil Mira, M. Martínez Rodríguez, N. El Boulifi, M. Sánchez Rodríguez, M. Serrano Martínez.

Número de publicación: 2458265

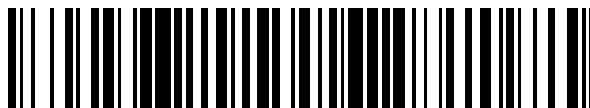
Fecha de la concesión: 19/01/2015.

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 458 265**

21 Número de solicitud: 201201085

51 Int. Cl.:

C07C 67/02 (2006.01)

C10L 1/02 (2006.01)

B01J 14/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

30.10.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

30.04.2014

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

09.12.2014

Fecha de la concesión:

19.01.2015

45 Fecha de publicación de la concesión:

26.01.2015

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
(100.0%)**

**Avda. Séneca, 2
28040 Madrid (Madrid) ES**

72 Inventor/es:

**ARACIL MIRA, José;
MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, Mercedes;
EL BOULIFI, Nourdeddin;
SÁNCHEZ RODRÍGUEZ, Marcos y
SERRANO MARTÍNEZ, Marta**

74 Agente/Representante:

PLUMET ORTEGA, Joaquín

54 Título: **Purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos mediante lavado con disolución cítrica para uso como combustible**

57 Resumen:

Purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos mediante lavado con disolución cítrica para su uso como combustible.

En la presente invención se refiere a una mejora del procedimiento de la etapa de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos obtenidos por transesterificación catalítica de aceites vegetales y/o grasas animales con alcoholes de bajo peso molecular, mediante lavado con disolución cítrica, para su uso como combustible aumentando la estabilidad a la oxidación y disminuyendo el volumen de agua de lavado. Por otra parte, estudió el efecto catalítico sobre la oxidación del biodiesel en de presencia de metales. Finalmente, se corroboró que, el hecho de utilizar como agente de lavado la disolución cítrica no interfiere en el resto de las propiedades que conforman la EN 14214, exceptuando la acidez que se ve ligeramente incrementada.

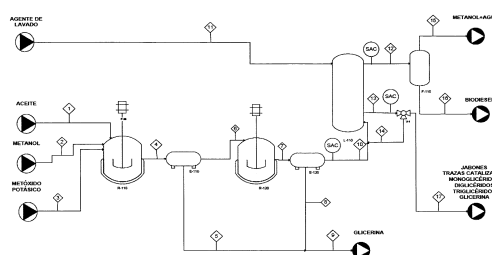


Figura 1: Diagrama de flujo del proceso con lavado en columna en contracorriente

ES 2 458 265 B2

DESCRIPCIÓN

Purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos mediante lavado con disolución cítrica para su uso como combustible.

5

Sector de la técnica

La presente invención trata sobre el procedimiento de obtención de combustibles, que comprende ésteres metílicos, etílicos, propílicos y butílicos, a partir de aceites vegetales caracterizándose dicho procedimiento porque comprende la transesterificación en presencia de un catalizador básico y un sistema para la purificación de la fase de ésteres alcohólicos. Esta purificación se realiza mediante lavado con una solución cítrica tanto en tanque como en columna. Respecto al lavado con agua, este procedimiento permite, por un lado, disminuir a la mitad el volumen de agente de lavado, y por otro lado, dado el carácter antioxidante y quelatante del ácido cítrico, es posible aumentar la estabilidad a la oxidación del biodiesel así como la resistencia a la oxidación en presencia de metales, tales como el cobre.

20

Estado de la técnica

La transesterificación de aceites vegetales o grasas animales ha sido ampliamente descrita y es actualmente un procedimiento común para la obtención industrial de ésteres alcohólicos de ácidos grasos para su uso como combustible.

25

Una de las limitaciones del uso de biodiesel como combustible es su baja estabilidad a la oxidación comparada con el diesel. Esta propiedad depende principalmente de la materia prima empleada. La oxidación del biodiesel da lugar a la formación de subproductos como ácidos corrosivos y biopolímeros, que empeoran el funcionamiento del motor.

30

Los ácidos grasos que contienen insaturaciones son más propensos a sufrir oxidación, y esta tendencia aumenta con el número de insaturaciones. Así, el biodiesel obtenido a partir del aceite de soja, que cuenta con una proporción relativamente elevada de grasas mono y poliinsaturadas, se oxida con mayor rapidez que el biodiesel derivado del aceite de palma, cuyo contenido principal se basa en grasas saturadas.

35

Otros factores que determinan la estabilidad a la oxidación del biodiesel son las condiciones de almacenamiento del mismo (temperatura, presencia de oxígeno, exposición a la luz, etc) y la presencia de sustancias anti y pro-oxidantes. Dentro de las sustancias pro-oxidantes, se encuentran los metales, que ejercen de catalizadores de la oxidación. El cobre es uno de los metales cuya actividad catalítica pro-oxidante es más fuerte y actúa con mayor rapidez en la oxidación del biodiesel.

Para aumentar por tanto la estabilidad a la oxidación se recurre al uso de sustancias antioxidantes, que pueden ser de origen sintético o natural. Dentro de los antioxidantes sintéticos más empleados se encuentran los compuestos fenólicos, tales como terc- butilhidroquinona (TBHQ), butilhidroxianisol (BHA), ésteres del ácido gálico, pirogalol, etc. Por su parte, los antioxidantes naturales más estudiados son los tocoferoles, ácido ascórbico, carotenoides, ácidos orgánicos, etc. La efectividad de los antioxidantes naturales es menor si se compara con antioxidantes sintéticos. El uso de antioxidantes tanto sintéticos como naturales para aumentar la estabilidad del biodiesel ha sido ampliamente estudiado y pueden encontrarse numerosas publicaciones al respecto (US 2011/0067294 A1, Dunn R.O. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). Fuel Processing Technology 2005; 86: 1071-1085).

La presente invención, cuyo proceso se detalla en la siguiente sección, consiste en emplear una disolución cítrica para lavar la fase de ésteres alcohólicos en un tanque o en una columna ya sea a contracorriente o en paralelo. Respecto al lavado con agua, se consigue disminuir el volumen del agente de lavado y dado el carácter antioxidante del ácido cítrico, el biodiesel resultante muestra mayor estabilidad a la oxidación, medida según el método Rancimat, descrito en la norma europea EN 141214. También se ha demostrado que el lavado de biodiesel procedente de aceite de colza con una disolución cítrica previene la oxidación en presencia de cobre. Este aumento en la estabilidad a la oxidación puede conllevar una reducción de la dosis de aditivos antioxidantes necesaria para el cumplimiento de la norma EN14214, que fija en 6 horas la estabilidad mínima requerida para el biodiesel. A su vez, el uso del cítrico no afecta de manera significativa a los demás parámetros de calidad especificados en la norma EN14214.

Descripción de la invención

En la presente invención se refiere a una mejora del procedimiento de la etapa de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos (Figuras 1 y 2), obtenidos por transesterificación catalítica de aceites vegetales y/o grasas animales con alcoholes de bajo peso molecular, mediante lavado con disolución cítrica, para su uso como combustible aumentando la estabilidad a la oxidación y disminuyendo el volumen de agua de lavado. Por otra parte, estudió el efecto catalítico sobre la oxidación del biodiesel en de presencia de metales. Además, el hecho de utilizar como agente de lavado la disolución cítrica no interfiere en el resto de las propiedades que conforman la EN 14214, exceptuando la acidez que se ve ligeramente incrementada.

La transesterificación se lleva a cabo con metanol, etanol, propanol y butanol (corriente 2) a temperatura comprendida entre 18 y 90°C dependiendo del alcohol, en dos reactores tipo tanque agitado en serie (R-110 y R-120) con decantación intermedia (E-110 y E-120) de glicerina entre las mismas (corrientes 4 y 7), obteniendo un rendimiento en ésteres, en todos los casos, superior al 97%. El catalizador utilizado en la reacción de transesterificación puede ser metóxido potásico, metóxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido sódico, etilato sódico o etilato potásico en un porcentaje con respecto a los reactivos de entre 0,5-2% (corriente 3). Una vez que la reacción finaliza se procede al lavado del producto resultante. El lavado se realiza tanto con agua como con una disolución cítrica de concentración comprendida entre 0.5-3%, dependiendo del índice de acidez de la materia prima y de los jabones formados en el proceso de producción de ésteres alcohólicos. De esta forma se puede evaluar la diferencia obtenida en las propiedades finales del biocombustible.

El lavado se efectúa en un tanque agitado, o bien; en una columna en contracorriente o en paralelo. La temperatura de operación del lavado se encuentra dentro del rango 25-50°C. El producto lavado, si fuera necesario, se recircula hasta que el resultado de la prueba de jabones sea negativo. Es importante reseñar que la cantidad de agua destilada necesaria para el lavado del biodiesel es superior de la cantidad de disolución cítrica. Finalmente, se realiza una destilación flash (F-110) de los ésteres alcohólicos lavados (corriente 10) para eliminar el agua y el alcohol remanentes en el medio. Para que la destilación se considere correcta, el contenido en agua del biodiesel final (corriente 16) debe ser inferior o igual al 0,05 % en peso

Una vez que se han obtenido los ésteres alcohólicos lavados con agua y los lavados con la disolución cítrica se procede al análisis de sus propiedades más significativas. El procedimiento descrito se aplicó al biodiesel obtenido a partir de los aceites de soja, colza, palma y girasol alto oleico.

Se ha evaluado también la estabilidad del biodiesel procedente del aceite de colza frente a la oxidación en presencia de cobre. Los metales actúan como catalizadores de la auto-oxidación de los ésteres alcohólicos. Numerosas publicaciones han concluido que el cobre es uno de los metales cuyo efecto pro-oxidante es más fuerte. Los antioxidantes tanto sintéticos como naturales pueden inhibir la oxidación en presencia de metales. El ácido cítrico puede formar complejos con los iones metálicos, por lo tanto, su presencia aumenta la estabilidad a la oxidación de los ésteres alcohólicos en presencia de cobre.

Modo de realización de la invención

La presente invención se hará más clara a partir de la consideración de los siguientes ejemplos que se exponen para ilustrar adicionalmente los principios de la invención y no pretenden, de ninguna manera, ser limitativos de su alcance.

Ejemplos

Como materia prima en la presente invención se emplean los aceites de soja, colza, girasol alto oleico y palma cuyas propiedades y composición en ácidos grasos se muestran en la tabla 1. Sin embargo, cualquier otro aceite de origen vegetal y/o grasa animal podría dar resultados análogos a los que se describen a continuación.

Tabla 1

Propiedad	Soja	Colza	Girasol Alto Oleico	Palma
Acidez (mg KOH/g)	0,18	0,17	0,24	0,17
Índice de Yodo (gI ₂ /100g)	134	104	91	56
Índice de peróxidos (meq/kg)	1,1	3,0	2,5	4,1
Estabilidad a la oxidación (h)	7	9	10	25
Composición (p/p. %)	Soja	Colza	Girasol Alto Oleico	Palma
Mirístico <i>C14:0</i>	0,3	0,1	0,0	2,5
Palmítico <i>C16:0</i>	10,9	5,1	3,5	40,8
Palmitoleico <i>C16:1</i>	0,0	0,0	0,1	0,0
Esteárico <i>C18:0</i>	3,2	2,1	3,1	3,6
Oleico <i>C18:1</i>	24,0	57,9	82,7	45,2
Linoleico <i>C18:2</i>	54,5	24,7	9,0	7,9
Linolénico <i>C18:3</i>	6,8	7,9	0,1	0,0
Aráquico <i>C20:0</i>	0,1	0,2	0,3	0,0
Gadoleico <i>C20:1</i>	0,0	1,0	0,3	0,0
Behénico <i>C22:0</i>	0,0	0,0	0,8	0,0
Erúico <i>C22:1</i>	0,0	0,2	0,0	0,0
Lignocérico <i>C24:0</i>	0,0	0,0	0,2	0,0
Saturados	14,5	7,5	7,9	46,9
Monoinsaturados	24,0	59,1	83,1	45,2
Polininsaturados (2,3)	61,3	32,6	9,1	7,9

En los ejemplos 1 y 2, como comparación se muestran la influencia del agente usado en el lavado (agua y disolución cítrica) en las propiedades del biodiesel.

Ejemplo 1

En este ejemplo se muestra la preparación de ésteres alcohólicos de ácido graso a partir de triglicéridos del aceite de colza refinado, usando el agua como agente el lavado.

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 2000 ml equipado con un sistema de agitación, con un control de temperatura y un sistema de refrigerante de reflujo. Se introduce en el reactor, el aceite y el metanol con una relación molar 1:6 y una concentración inicial de catalizador del 1% en peso. La temperatura de reacción se mantiene en 60°C y la velocidad de agitación es de 600 r.p.m. El tiempo

total de la reacción es de 60 minutos con una decantación intermedia y otra al final de la reacción para la eliminación de la fase glicerol. A continuación, se procede al lavado de la fase metiléster para la eliminación de las impurezas con agua como agente de lavado en una columna en contracorriente. El volumen de agua necesario para la purificación del biodiesel es de 1,5 veces el volumen inicial. La conversión de los triglicéridos en esteres alquílicos, determinada mediante cromatografía de gases, es superior al 98,5%.

Ejemplo 2

En este ejemplo se muestra la preparación de ésteres de ácido grasos a partir de triglicéridos del aceite de colza refinado, usando una disolución cítrica de como agente el lavado.

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 2000 ml equipado con un sistema de agitación, con un control de temperatura y un sistema de refrigerante de reflujo. Se introduce en el reactor, el aceite y el metanol en una relación molar 1:6 y una concentración inicial de catalizador del 1% en peso. La temperatura de reacción se mantiene en 60°C y la velocidad de agitación es de 600 r.p.m. El tiempo total de la reacción es de 60 minutos con una decantación intermedia y otra al final de la reacción para la eliminación de la fase glicerol. A continuación, se procede al lavado de la fase metiléster para la eliminación de las impurezas con una disolución c al 2% como agente de lavado en una columna en contracorriente. El volumen de la disolución cítrica necesario para la purificación del biodiesel es de 0,75 veces el volumen inicial. La conversión de los triglicéridos en esteres alquílicos, determinada mediante cromatografía de gases, es superior al 98,5%.

El biodiesel obtenido en el ejemplo 1 y 2 se caracteriza para determinar sus propiedades más relevantes y evaluar las diferencias producidas en función del agente de lavado. En la tabla 2 se recogen los resultados de los análisis para el biodiesel procedente del aceite de colza.

Tabla 2

	Propiedades	Método	Limites		Agua	Disolución cítrica
			Min.	Max.		
5	Contenido en Éster (% peso)	EN14103	96.5		>98,5	>98,5
	Acidez(mg KOH/g)	EN14104		0.5	0.13	0.18
	Índice de Yodo(gI ₂ /100g)	EN14111		120 ^a	113	114
	POFF (°C)	EN 116	-10 ^b	0	-13	-13
10	Estabilidad a la oxidación (h)	EN14112	6.0		4.6	8.1
	Viscosidad (cSt)	ENISO 3104	3.5	5.0	4.7	4.6

^aModificado por el RD 61/2006, siendo el límite máximo en España 140

^bEn función de clima y país. En España se exige un máximo de 0°C en verano (1 de abril a 30 de septiembre) y de -10 °C en invierno (1 de octubre a 31 de Marzo)

Como puede observarse en la tabla 2, cuando el lavado se realiza con una disolución cítrica, la muestra de biodiesel de aceite de colza aumenta su estabilidad, encontrándose por encima de las 6 horas fijadas por la norma EN14214. Concretamente, el lavado con agua resulta en una estabilidad a la oxidación de 4,6 horas frente a 8,1 horas si el lavado se realizara con una disolución cítrica. El resto de las propiedades del biocombustible permanecen constantes a excepción de la viscosidad y la acidez que sufren ligeras modificaciones resultantes del lavado cítrica, aunque sus valores están dentro de los límites especificados por la norma EN14214.

Ejemplo 3

En el ejemplo 3 la reacción de transesterificación transcurre de forma análoga que en los ejemplos 1 y 2, salvo que la etapa de lavado, tanto con agua como con disolución cítrica, se realiza en tanque agitado en vez de en columna.

Ejemplo 4

En este ejemplo se muestra la influencia del agente de lavado sobre la estabilidad a la oxidación del biodiesel en presencia de un metal (Cobre). Las muestras usadas para llevar a cabo el análisis de la estabilidad de oxidación son las mencionadas en los ejemplos 1 y 2 (biodiesel de aceite de colza lavado con agua y con una disolución cítrica, respectivamente). Se añadieron al biodiesel trazas de cobre (67 ppm) para su análisis en el equipo Rancimat. Los resultados de los análisis efectuados en presencia y en ausencia de cobre se recogen en la tabla siguiente:

Tabla 3

Biodiesel de aceite de colza	Sin cobre	Con cobre (67 ppm)
Lavado con agua	4.6 horas	2.0 horas
Lavado con disolución cítrica al 2%	8.1 horas	7.9 horas

Como se puede apreciar la tabla 3, el lavado con disolución cítrica comparado con el lavado con agua, resulta en una inhibición del efecto catalítico sobre la oxidación del biodiesel; debido al carácter quelante del ácido cítrico.

La metodología descrita en los ejemplos 1 y 2 para el biodiesel de aceite de colza se repitió empleando como materia prima aceite de soja, aceite de palma y aceite de girasol alto oleico dando lugar a biodiesel con las siguientes propiedades.

Tabla 4

AGENTE DE LAVADO												
5	Agua destilada								Disolución Cítrica			
	Propiedad	Método	Límites		Soja	Colza	Girasol	Palma	Soja	Colza	Girasol	Palma
			Min.	Max.								
10	Contenido en Éster (wt. %)	EN 14103	96.5		> 97	> 97	> 97	> 97	> 97	> 97	> 97	> 97
	Acidez (mg KOH/g)	EN 14104		0.5	0.16	0.13	0.14	0.15	0.34	0.18	0.21	0.20
	Índice de Yodo (gI ₂ /100g)	EN 14111		120 ^a	130	113	87	51	130	114	87	51
	POFF °C	EN 116	-10 ^b	0	-4	-13	-4	14	-4	-13	-4	14
	Estabilidad Oxidación (h)	EN 14112	6.0		2.9	4.6	5.1	8.1	6.0	8.1	14.4	24.5
15	Viscosidad (cSt)	EN ISO 3104	3.5	5.0	4.8	4.7	4.8	4.9	4.8	4.6	4.9	4.9

^aModificado por el RD 61/2006, siendo el límite máximo en España 140

^bEn función de clima y país. En España se exige un máximo de 0°C en verano (1 de abril a 30 de septiembre) y de -10 °C en invierno (1 de octubre a 31 de Marzo)

De forma análoga al caso descrito en los ejemplos 1 y 2 la estabilidad a la oxidación de los metilésteres obtenidos a partir de aceite de soja, colza, palma y girasol alto oleico se incrementa como resultado del uso de la disolución cítrica en el proceso de lavado del biodiesel. Además, el resto de propiedades especificadas por la normativa UNE EN 14214 no se ven alteradas de forma significativa.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos obtenidos por transesterificación catalítica de aceites vegetales y/o grasas animales con alcoholes de bajo peso molecular para uso como combustible según la norma EN14214/2003, caracterizado porque el lavado se realiza con disolución acidulada con ácido cítrico de concentración comprendida entre 0,5-3% y no es necesario
10 añadir antioxidantes.
2. Procedimiento de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos, según reivindicación 1, donde la concentración de ácido cítrico es del 2%.
- 15 3. Procedimiento de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos, según reivindicación 1, donde el lavado se realiza a una temperatura entre 25 y 50°C.
4. Procedimiento de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos, según
20 reivindicación 1, donde el lavado se puede realizar en tanque agitado o en columna.
5. Procedimiento de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos, según reivindicación 3, donde el lavado se realiza en columna en contracorriente o en
25 paralelo.
6. Procedimiento de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos, según reivindicaciones 1 a 3, donde el lavado se realiza en columna utilizando un volumen de disolución cítrica de lavado de 0,75 veces el volumen inicial.

30

35

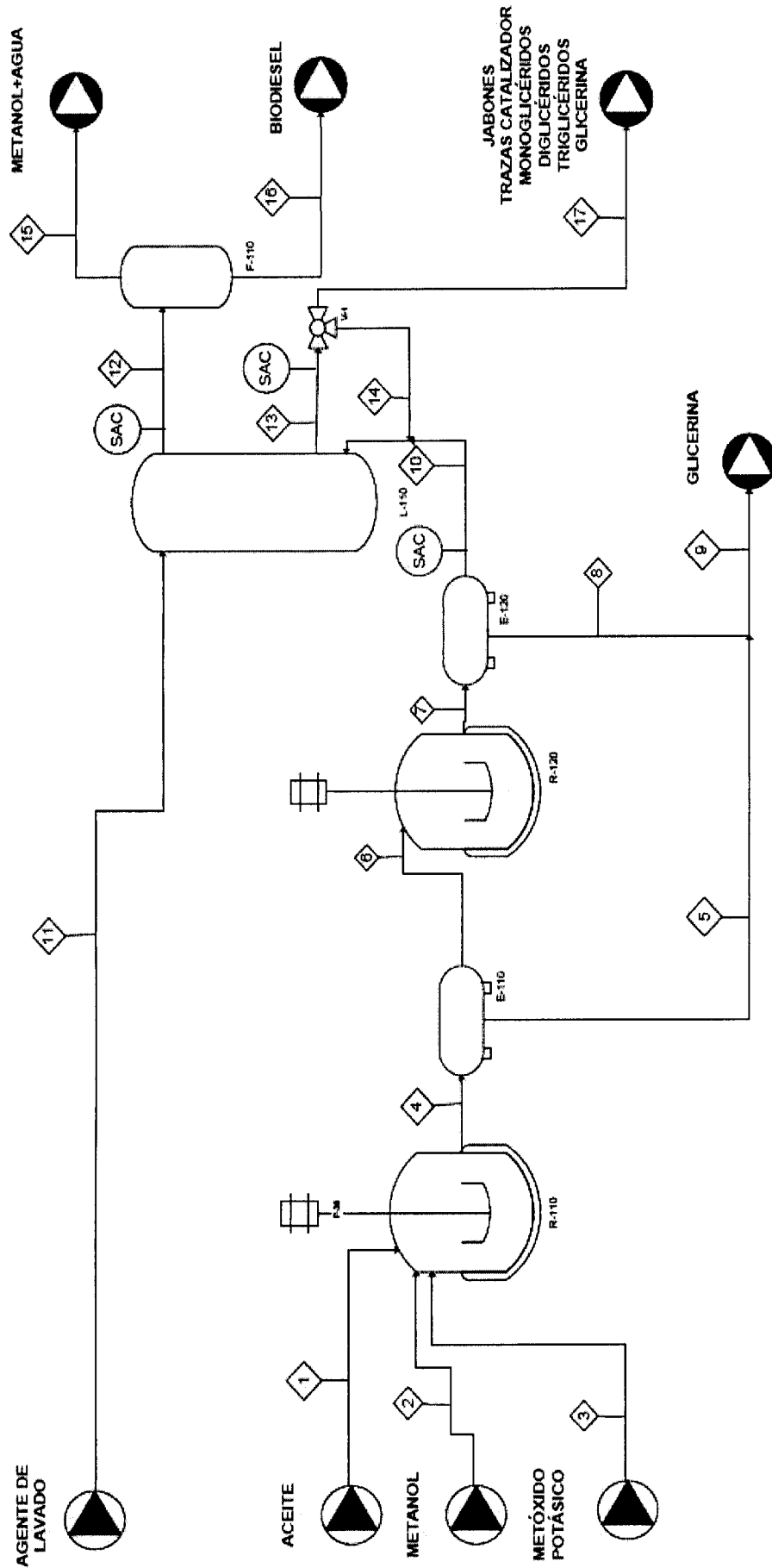


Figura 1: Diagrama de flujo del proceso con lavado en columna en contracorriente

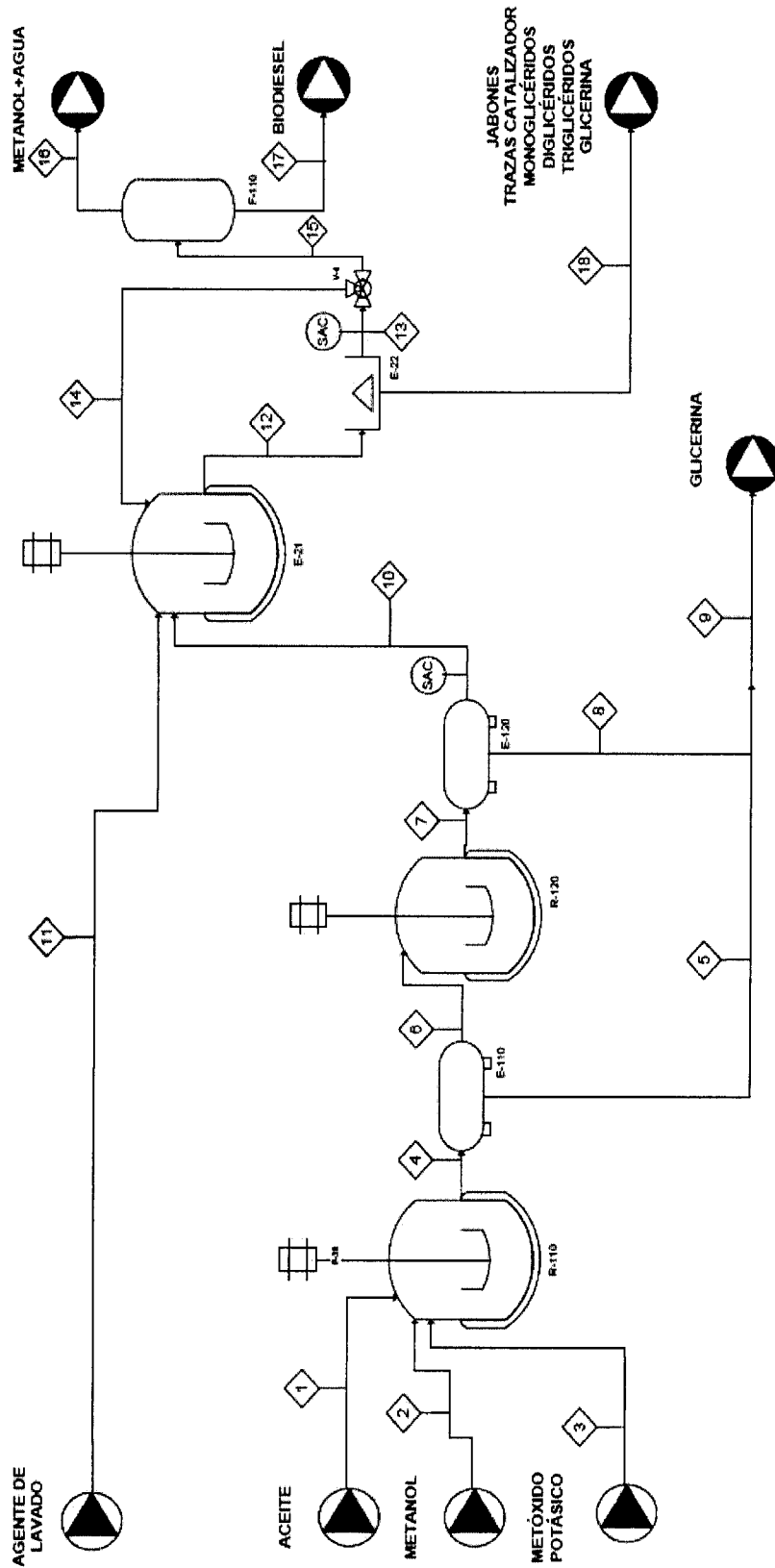


Figura 2: Diagrama de flujo del proceso con lavado en tanque



- ②1 N.º solicitud: 201201085
②2 Fecha de presentación de la solicitud: 30.10.2012
③2 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤1 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤6 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	L. CANOIRA, et al. 11.06.2009, "Fatty acid methyl esters (FAMES) from castor oil: Production process assessment and synergistic effects in its properties", Renewable Energy 35 (2010) 208-217, resumen y punto 2.3.	1,2,5-9
Y		3-4
X	P. CASTRO, et al. 2007, "Opciones para la producción y uso del biodiésel en el Perú", Soluciones Prácticas – ITDG, ISBN N° 978-9972-47-139-0, [en línea] [recuperado el 27.02.2014]. Recuperado de Internet: <URL: http://www.olade.org/sites/default/files/CIDA/Biocomustibles/Otros/Proceso%20de%20Produccion%20de%20Biodiesel%20(Modelo%20de%20Peru).pdf >, punto 5.1.3.	1,2,5-9
Y		3-4
X	A. RIBEIRO, et al. "Influence of Free Fatty Acid Content in Biodiesel Production on Non-Edible Oils", [en línea] [recuperado el 27.02.2014]. Recuperado de Internet: <URL: http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/14980/1/INFLUENCE%20OF%20FREE%20FATTY%20ACID%20CONTENT%20IN%20BIODIESEL%20PRODUCTION%20ON%20NON-EDIBLE%20OILS.pdf >, punto "Experimental Procedure" y fig. 2.	1,2,5-9
Y		3-4
X	J.R. RODRÍGUEZ "Producción y evaluación de biodiésel a partir de aceite de girasol (Heliantus annuus) de desecho del comedor estudiantil de Zamorano.", [en línea] [recuperado el 27.02.2014]. Recuperado de Internet: <URL: http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/779/1/T2307.pdf >, apartado 3.4.4.	1,2,5-9
Y		3-4
X	E. A. BARRIGA "Diseño del Módulo de Transesterificación de una Planta Piloto para Producción de Biodiésel a partir de Aceites Usados de Cocina", [en línea] [recuperado el 27.02.2014]. Recuperado de Internet: <URL: http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/1021/BARRIGA_MORENO_EDUARDO_TRANSESTERIFICACION_BIODIESEL_ACEITES.pdf?sequence=1 >, apartado 2.1.3.	1,2,5-9
Y		3-4

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
29.01.2014

Examinador
I. González Balseyro

Página
1/5



- ②① N.º solicitud: 201201085
②② Fecha de presentación de la solicitud: 30.10.2012
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	WO 2008091944 A2 (BEST EN INC et al.) 31.07.2008, párrafos [0095-0096].	3-4

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe
29.01.2014

Examinador
I. González Balseyro

Página
2/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

B01J14/00 (2006.01)

C07C67/02 (2006.01)

C10L1/02 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07C, C11C, B01J, C10L

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTUS, TXTEP, TXTGB, XPESP, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 29.01.2014

Declaración**Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)**

Reivindicaciones 3-4

SI

Reivindicaciones 1, 2, 5-9

NO**Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)**

Reivindicaciones

SI

Reivindicaciones 1-9

NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	L. CANOIRA, et al.	11.06.2009
D02	P. CASTRO, et al. 2007, "Opciones para la producción y uso del biodiésel en el Perú", Soluciones Prácticas – ITDG, ISBN N° 978-9972-47-139-0	2007
D03	A. RIBEIRO, et al. "Influence of Free Fatty Acid Content in Biodiesel Production on Non-Edible Oils".	12.09.2011
D04	J.R. RODRÍGUEZ "Producción y evaluación de biodiesel a partir de aceite de girasol (<i>Heliantus annuus</i>) de desecho del comedor estudiantil de Zamorano."	dic 2006
D05	E. A. BARRIGA "Diseño del Módulo de Transesterificación de una Planta Piloto para Producción de Biodiesel a partir de Aceites Usados de Cocina".	sep 2011
D06	WO 2008091944 A2 (BEST EN INC et al.)	31.07.2008

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la invención es un procedimiento de purificación de ésteres alcohólicos de ácidos grasos mediante lavado con una disolución acidulada.

El documento D01 divulga un procedimiento de obtención de ésteres alcohólicos de ácidos grasos mediante transesterificación de aceite de ricino donde dicho éster es purificado mediante un lavado con una solución de ácido cítrico al 1% en peso o bien utilizando un adsorbente. (Ver resumen y punto 2.3).

El documento D02 divulga un procedimiento de obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales o grasas animales donde el biodiesel obtenido es sometido a un lavado con agua acidulada con ácido cítrico o ácido fosfórico. (Ver punto 5.1.3.).

El documento D03 divulga un proceso de obtención de biodiesel a partir de grasa animal o de aceite usado manteniendo agitación y una temperatura de 60°C durante la reacción, donde el biodiesel obtenido se purifica con un lavado con una solución de ácido cítrico al 0,4%. (Ver punto "Experimental Procedure" y fig. 2).

El documento D04 divulga procesos de obtención de biodiesel a partir de aceite de desecho y a partir de aceite nuevo donde el biodiesel producto es lavado con una solución de ácido cítrico al 0,05%. (Ver apartado 3.4.4.).

El documento D05 divulga un procedimiento de obtención de biodiesel a partir de aceite usado teniendo lugar la reacción de transesterificación a 60°C con una relación aceite / metanol de 1:6, donde el biodiesel obtenido es lavado con agua acidulada, bien con ácido fosfórico, bien con ácido cítrico, para la eliminación de impurezas. (Ver apartado 2.1.3.).

Por tanto, se considera que el objeto de la invención, según se define en las reivindicaciones 1-2, 5-9 de la solicitud no es nuevo a la luz de lo divulgado en el documento D01-D05. (Art. 6.1 LP).

Respecto a las reivindicaciones 3 y 4, aunque los documentos D01-D05 no divulgan explícitamente el equipo en el que se lleva a cabo el lavado del biodiesel, reconociéndose por lo tanto novedad, se considera que carece de actividad inventiva ya que resulta de una selección arbitraria dentro de los posibles equipos para llevar a cabo dicha operación, los cuales son conocidos en el estado de la técnica (ver párrafos [0095-0096] del documento D06 del IET), por lo que sería evidente para un experto en la materia la utilización de una columna o un tanque para llevar a cabo el lavado del biodiesel en cualquiera de los procesos divulgados en los documento D01 a D05 obteniéndose así el objeto de las reivindicaciones 3 y 4 de la invención.

En vista de lo anterior, las reivindicaciones dependientes 3 y 4 carecen de actividad inventiva según lo establecido en el Artículo 8.1 de la Ley de Patentes.

➤ **ANEXO VI: OTROS ARTÍCULOS, PATENTES Y PUBLICACIONES**



Solvent-free lipase-catalyzed synthesis of a novel hydroxyl-fatty acid derivative of kojic acid.

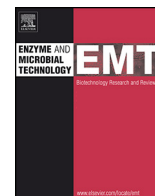
N. El Boulifi, S.E. Ashari, **M. Serrano**, J. Aracil, M. Martínez.

Enzyme and Microbial Technology 2014 (55) 128-132.

Factor de Impacto (2014): 2.322

Factor de Impacto 5 años (2014): 2.932

Citaciones: 2



Solvent-free lipase-catalyzed synthesis of a novel hydroxyl-fatty acid derivative of kojic acid

Noureddin El-Boulifi^a, Siti Efliza Ashari^b, Marta Serrano^a,
Jose Aracil^a, Mercedes Martínez^{a,*}

^a Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemistry, University of Complutense, 28040 Madrid, Spain

^b Department of Bioprocess Technology, Faculty of Biotechnology and Biomolecular Sciences, University Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 June 2013

Received in revised form 2 October 2013

Accepted 25 October 2013

Keywords:

Esterification

Hydroxyl-fatty acid

Kojic acid

Lipase

Optimization

Solvent-free system

ABSTRACT

The aim of this work was the synthesis of a novel hydroxyl-fatty acid derivative of kojic acid rich in kojic acid monoricinoleate (KMR) which can be widely used in the cosmetic and food industry. The synthesis of KMR was carried out by lipase-catalysed esterification of ricinoleic and kojic acids in solvent-free system. Three immobilized lipases were tested and the best KMR yields were attained with Lipozyme TL IM and Novozym 435. Since Lipozyme TL IM is the cheapest, it was selected to optimize the reaction conditions. The optimal reaction conditions were 80 °C for the temperature, 1:1 for the alcohol/acid molar ratio, 600 rpm for stirring speed and 7.8% for the catalyst concentration. Under these conditions, the reaction was scaled up in a $5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ stirred tank reactor. ^1H – ^{13}C HMBC-NMR showed that the primary hydroxyl group of kojic acid was regioselectively esterified. The KMR has more lipophilicity than kojic acid and showed antioxidant activity that improves the oxidation stability of biodiesel.

© 2013 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

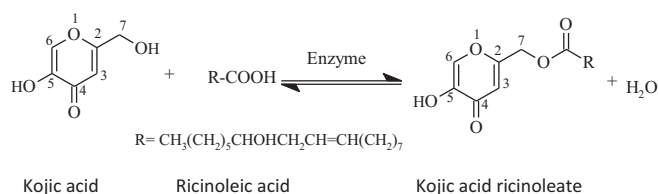
Kojic acid (5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-1,4-pyrone) is a cheap fungal metabolite produced by many species of *Aspergillus* and *Penicillium*, made from carbohydrates particularly glucose and starch [1]. Kojic acid is widely used as a food additive to prevent the browning reaction or in cosmetics as a skin whitening agent [2–4]. However, kojic acid is water-soluble and unstable at high temperature for long term storage, prohibiting it to be directly incorporated in oil base cosmetic products. To improve the kojic acid properties, such as storage stability, compatibility and oil-solubility, many kojic acid derivatives have been synthesized, usually by modifying the C-5 hydroxyl group to form hydroxyphenyl ethers or esters or by using this group to form glycosides or peptide derivatives [5–8]. The main reason is that the kojic acid derivatives were approximately 15 times more stable than kojic acid itself [6].

The esterification protocol of kojic acid with long chain fatty acids in the presence of acid or alkaline catalysts usually results in a complex mixture and makes easy the formation of esters at C-5, the secondary hydroxyl group of kojic acid. Kojic acid possesses two different hydroxyl groups: the secondary hydroxyl group at C-5

position and the primary hydroxyl group at C-7. The hydroxyl group at the C-5 position of kojic acid is essential to the radical scavenging activity and tyrosinase interference activity, respectively [9]. The use of immobilized lipases eliminates the inherent problems associated with the use of chemical catalysts. Liu and Shaw [10] improved the lipophilic property of kojic acid by lipase-catalysed acylation with lauric and oleic acids in presence of acetonitrile as solvent. In this case, the acylation was also carried out at C-5 hydroxyl group (secondary hydroxyl group of kojic acid). Subsequently, Khamaruddin et al. [11] tried to improve Liu yields by esterification of kojic acid and oleic acid using lipase from *Candida rugosa* and *Aspergillus Niger*, in organic media. The maximum yield was not exceeded 45%. Optimized enzymatic synthesis of kojic acid monooleate has been reported by Ashari et al. [12] but with an unsatisfactory yield (40% after 48 h reaction time). In both cases, the kojic acid was esterified at C-5 hydroxyl group.

The most common fatty acids used in kojic acid esterification were: oleic, palmitic and lauric acids, and the reactions were carried out in presence of organic solvent. However, to the best of our knowledge, there are not studies to date on the enzymatic esterification of kojic acid with hydroxyl-fatty acids in solvent free systems. The best known example of hydroxyl fatty acid is the ricinoleic acid (cis-12-hydroxy-9-octadecenoic acid), which constitutes between 80 and 90% in castor oil [13]. This acid is characterized by the presence of the hydroxyl group which imparts

* Corresponding author. Tel.: +34 91 394 4167; fax: +34 91 394 4167.
E-mail address: mmr1@quim.ucm.es (M. Martínez).



Scheme 1. Kojic acid monoricinoleate synthesis.

several unique chemical and physical properties. The use of this hydroxyl fatty acid for the lipase-regioselective esterification of diols was reported previously by our research group [14,15].

It is studied here the lipase-catalysed esterification of the kojic acid with ricinoleic acid in a solvent-free system. Three different commercially available lipases were evaluated for their catalytic activity in the reaction. For the selected lipase, the optimization of the reaction was performed with respect to the temperature, the catalyst concentration and stirring speed as independent variables and the yield of KMR as a response variable. Furthermore, the synthesis of KMR (Scheme 1) at the optimum conditions was tested, using a $5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ batch reactor in order to investigate the possibility of large-scale production. Antioxidant activities and biodiesel solubility of the purified KMR were measured.

2. Experimental

2.1. Equipment

Reactions were performed in a solvent-free system using a batch stirred reactor of 500 cm^3 volume, under fixed conditions of pressure and temperature. Pressure, stirring speed and temperature controllers were provided. The propeller used was marine-type and the speed was set at 600 rpm. The desired working pressure (60 mmHg) was maintained by a vacuum pump. This permitted ready elimination of water from the system in range of temperature studied, without significant variations of viscosity of the liquid phase or reaction volume. The reaction temperature was achieved by immersing the reactor into a thermostatic bath with an electrical device connected to a PID controller which allows a temperature control of $\pm 0.1^\circ \text{C}$.

2.2. Materials

Kojic acid (purity, 98%) was kindly donated by Institute of Bioscience (Malaysia) and ricinoleic acid (purity, 95%) was supplied by Fluka (Spain). Immobilized thermostable lipase from *Candida antarctica* (Novozym 435), from *Rhizomucor miehei* (Lipozyme RM IM) and from *Thermomyces lanuginose* (Lipozyme TL IM) were kindly provided by Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark).

2.3. Analytical methods

2.3.1. Gas chromatography (GC)

Kojic acid monoricinoleate (KMR) was monitored by capillary column GC, using a Hewlett-Packard 5890 series II equipped with a flame ionization detector (FID). The injection system was split-splitless. The carrier gas was helium at a flow rate of 1 mL/min. The analytical procedures and the operating conditions have been already described in a previous work [16]. The quantification was based on external calibration using standard solutions of octyl octanoate, over the range of 0.02–0.06 mg/mL and reaction aliquots were always prepared in CS_2 to a final concentration of 3 mg/mL.

2.3.2. Nuclear magnetic resonance (NMR)

^1H , ^{13}C , Dept and ^1H – ^{13}C HMBC spectra were measured on a Bruker Avance-DPX-300 spectrometer at 300 MHz, in CDCl_3 solution. The chemical shifts (δ) were expressed in parts per million (ppm) relative to tetramethylsilane (TMS), and the coupling constants (J) were given in hertz (Hz).

2.3.3. Infra-red (IR)

IR spectra were recorded as a thin film using NaCl plate on a PERKIN-ELMER 781 spectrophotometer (ν_{max} in cm^{-1}).

2.3.4. Oxidative stability

The oxidation stability of rapeseed biodiesel was analyzed according to Rancimat method using Metrohm 743 Rancimat equipment (Herisau, Switzerland). Three grams of sample were placed in a heating block at 110°C ; the air flow rate was 10 L/h and volatile products were discharge in a flask containing 50 mL of distilled water

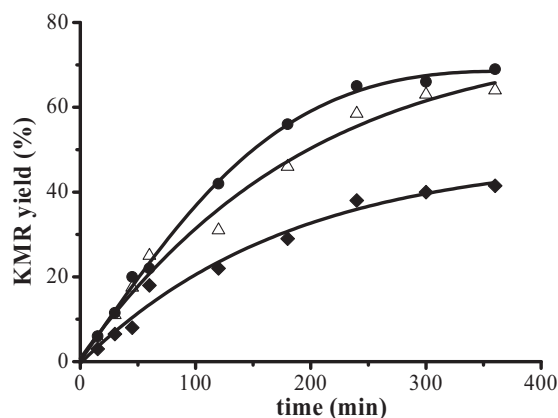


Fig. 1. Effect of different enzymes on KMR yield: Novozym 435 (●), Lipozyme TL IM (Δ) and Lipozyme RM IM (◆). This experiment was performed at a molar ratio of 1:1 (kojic acid to ricinoleic acid), temperature of 75°C and catalyst concentration of 3% of the total weight of the substrate.

where conductivity changes were measured. The time corresponding to the inflection point in the oxidation curve is the Induction Period (IP). Each sample was run in duplicate.

2.4. Lipase-catalyzed synthesis of kojic acid monoricinoleate

Ricinoleic and kojic acids were added to the reactor and the stirring was started. When the desired temperature was reached, the catalyst was added and the vacuum pump was turned on in order to displace the equilibrium towards the KMR synthesis. The reactants were stirred during 360 min. The samples were taken at regular intervals and analyzed by GC. The product was purified by a silica gel 60 (with a mesh size 40–63 mm) column chromatography using hexane/ethyl acetate (75:25, v/v) as eluents. The purified KMR is viscous oil. IR (neat): 3421, 2932, 2855, 1737 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.79 (1H, s), 6.43 (1H, s), 5.47–5.31 (2H, dt, J = 13.7, J = 2.3), 4.68 (2H, s), 3.57–3.53 (1H, m), 2.32 (2H, t, J = 2.5), 2.16–2.11 (2H, m), 2.00–1.93 (2H, m), 1.60–1.53 (2H, m), 1.40–1.33 (2H, m), 1.23–1.20 (18H, m), 0.88–0.63 (3H, m); ^{13}C NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 174.2, 172.6, 162.8, 146.1, 138.6, 133.0, 125.3, 111.5, 71.5, 61.1, 36.8, 35.3, 33.8, 31.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.0, 28.9, 27.3, 25.7, 24.7, 22.6, 14.1.

3. Results and discussion

3.1. Enzyme screening

The first step in this work is to find the most suitable lipase to carry out the optimization of the process esterification. The effects of the three lipases (Novozym 435, Lipozyme TL IM and Lipozyme RM IM) from three different sources were investigated for their ability to produce KMR ester by esterification of kojic acid with ricinoleic acid and the results were represented in Fig. 1. For these trials, the temperature, the catalyst concentration, the reaction time and the substrate molar ratio were held constant at 75°C , 3% of the total weight of the substrate, 360 min and 1:1 (kojic acid to ricinoleic acid). The initial reaction rates were similar for Novozym 435 and Lipozyme TL IM. The KMR yield increased sharply at the first 180 min of reaction time. The highest KMR yield was obtained with Novozym 435 (68%) followed by Lipozyme TL IM (65%). However, by using Lipozyme RM IM from *Rhizomucor miehei*, the reaction rate was much lower, and the maximum KMR yield achieved with this lipase was around 40%, after 360 min of reaction time. Although the best KMR yield was attained with Novozym 435 from *Candida antarctica*, Lipozyme TL IM from *Thermomyces lanuginose* was selected to optimize the esterification of kojic and ricinoleic acids because it is the cheapest.

3.2. Effect of stirring speed

A preliminary study has been carried out to study the effect of stirring speed on the process. As can be seen in Fig. 2, the

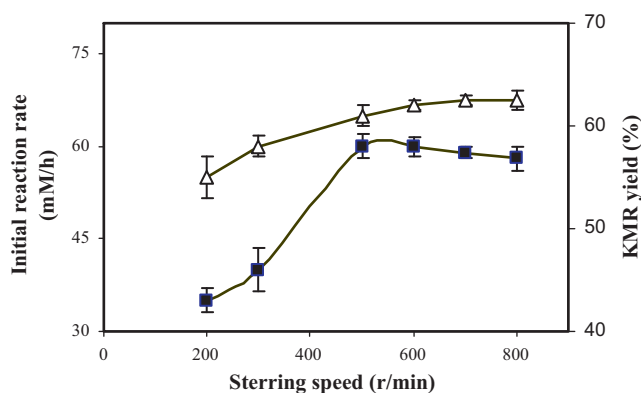


Fig. 2. Effect of stirring speed on the reaction: (■) Initial reaction rate; (★) KMR yield (%). The reactions were carried out at 70 °C, 3% of catalyst concentration and kojic acid/ricinoleic acid molar ratio of 1:1.

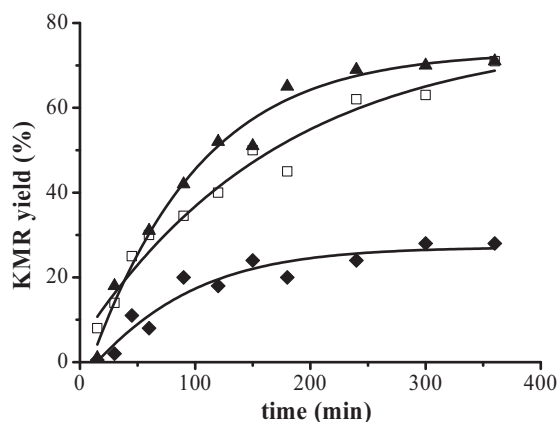


Fig. 3. Effect of molar ratio on KMR yield: 1:1 (□), 1:3 (▲) and 1.5:1 (◆). This experiment was performed at temperature of 75 °C and catalyst concentration of 5%.

reaction accelerated rapidly with the increase in stirring speed up to 500 rpm, implying that mass transfer was the rate-limiting step [17]. Increasing the stirring speed beyond 500 rpm caused a lower initial rate due to the observable aggregation of immobilized enzyme. The stirring speed showed a little effect on the maximum yield of KMR. Therefore, the stirring speed was fixed at 600 rpm.

3.3. Effect of molar ratio

The effect of molar ratio on the esterification of kojic acid with ricinoleic acid was investigated. Fig. 3 represents the KMR yield as a function of reaction time at different molar ratios of kojic acid to ricinoleic acid: 1:1, 1:3 and 1.5:1. For these trials, the catalyst concentration and the reaction temperature were held constant at 5% and 75 °C respectively. A slight increase was observed in KMR yield when the molar ratio was increased from 1:1 to 1:3 (excess of ricinoleic acid). However, an excess of alcohol (kojic acid) had an unfavourable effect on the KMR yield because the reagents were in a solid form. The molar ratio of kojic acid to ricinoleic acid was fixed at 1:1 for the subsequent experiments.

3.4. Effect of reaction temperature

The effect of temperature on the esterification of kojic acid with ricinoleic acid was evaluated. The range of temperature tested was from 60 to 80 °C. For these trials, the catalyst concentration and the kojic acid to ricinoleic acid molar ratio were kept constants at 5% and 1:1, respectively (Fig. 4). The KMR yield was increased when the

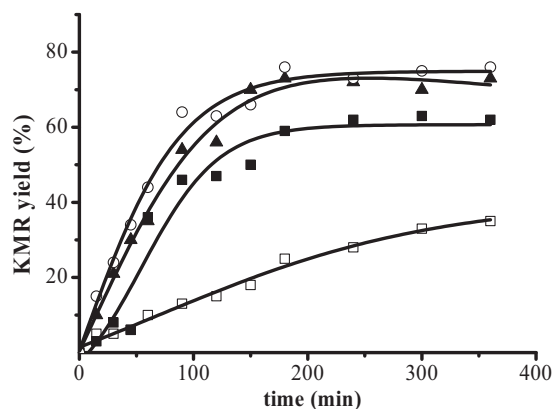


Fig. 4. Effect of reaction temperature on KMR yield: 60 °C (□), 70 °C (■), 75 °C (▲) and 80 °C (○). This experiment was performed at molar ratio of 1:1 (kojic acid to ricinoleic acid) and catalyst concentration of 5%.

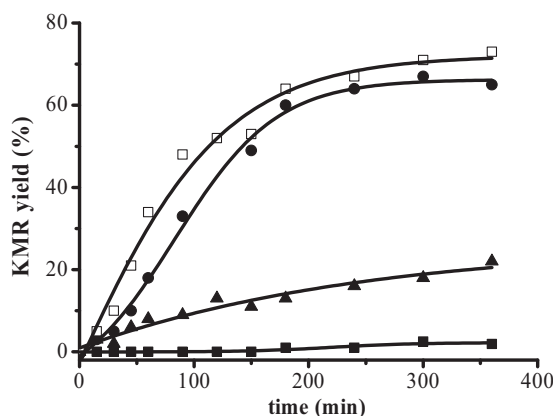


Fig. 5. Effect of catalyst concentration on KMR yield: 0% (■), 1% (▲), 3% (●) and 5% (□). This experiment was performed at temperature of 75 °C and molar ratio of 1:1 (kojic acid to ricinoleic acid).

temperature increased. At low temperature (60 °C), the maximum yield of KMR does not exceed 35%, whereas the production of KMR was increased to more than 75% at high temperature (80 °C) after 360 min of reaction time. An increase in the temperature improves the solubility of kojic acid in ricinoleic acid which behaves as a solvent, in the absence of the solvent in the medium, resulting in the enhancement of the reaction rate. This fact can be favourable for the interaction between enzyme particles and the substrates. The increase in KMR yield was negligible when the temperature was further increased from 75 to 80 °C.

3.5. Effect of catalyst concentration

The effect of the catalyst concentration on KMR yield as a function of reaction time at fixed reaction temperature (75 °C) and substrate molar ratio of kojic acid to oleic acid (1:1) is showed in Fig. 5. The yield of KMR increased in a linear way with an increase of the catalyst concentration from 1 to 5 wt %. A marked increase in KMR yield was observed when the catalyst concentration increased from 1 to 3%. However, the esterification did not occur without catalyst.

3.6. Large-scale reaction

The optimum conditions obtained in previous experiments for esterification of kojic acid with ricinoleic acid catalyzed by Lipzyme TL IM were: 80 °C for the temperature, 7.8% for the

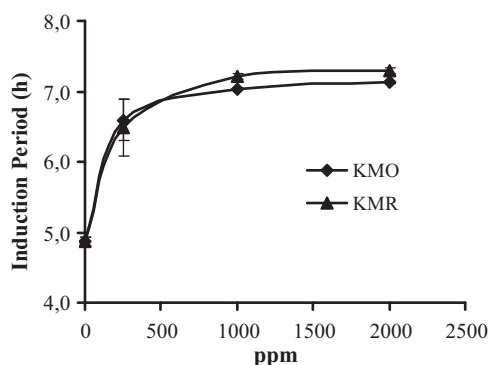


Fig. 6. Influence of KMR and KMO concentrations on the oxidation stability of rapeseed biodiesel.

catalyst concentration and 1:1 for the alcohol/acid molar ratio. In these conditions at around 6 h an 87.4% KMR yield was reached. Under the optimum conditions the reaction was scale up using a $5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ batch reactor and the KMR yields reached 86.9%, similar to that obtained in small scale.

4. Industrial application of kojic acid monoricinoleate

The ^1H – ^{13}H HMBC spectrum showed that the lipase-catalyzed esterification of kojic acid in solvent-free system was carried out at C-7 position, primary hydroxyl group of kojic acid and not in the hydroxyl group at C-5. Since the hydroxyl group at the C-5 position of kojic acid is essential to the occurrence of radical scavenging activity and tyrosinase interference activity, respectively. The KMR may have radical scavenging activities and inhibits tyrosinase activity. In the present paper the industrial application of KMR, have been evaluated as an additive for biodiesel. The solubility of the product and its influence in rapeseed biodiesel have been measured

4.1. Solubility of kojic acid and kojic acid monoricinoleate in rapeseed biodiesel

In contrast to other solids fatty acid derivatives of kojic acid, the KMR obtained is a viscous liquid at room temperature. Kojic acid is water-soluble but is hard to dissolve in oils or biodiesel. Its esterification with hydroxyl-fatty acid would be expected that the solubility in biodiesel and oil would be improved. The solubilities at 25 °C of kojic acid and KMR in rapeseed biodiesel were 0.095 and 1.53 mmol/l, respectively. Introduction of a ricinoleyl residue into kojic acid increased the solubility in rapeseed biodiesel by 16 times. Thus, esterification of kojic acid with ricinoleic acid improved the solubility in a hydrophobic medium.

4.2. Effect of kojic acid esters on the oxidation stability of biodiesel

In this experiment, the induction period was measured as an indication of the oxidation stability of rapeseed biodiesel when kojic acid monoricinoleate (KMR) and kojic acid monooleate (KMO) [18] were added. Fig. 6 shows the effect of the concentrations of KMR and KMO on the oxidation stability of rapeseed biodiesel. The induction period of rapeseed biodiesel without antioxidants was 4.86 h, which is below the standard value of the oxidation stability of 6 h requirement specified in EN 14214 fuel [19]. However, the induction period increased with increasing concentrations of KMR and KMO. The KMR and KMO improved the induction period from 4.86 with no additive to 7.13 and 7.3 h when 2000 ppm of KMO and KMR was added, respectively, increasing the oxidation stability of rapeseed biodiesel by almost more than 62%. Serrano et al. [20] reported similar results studying the effect of five antioxidants on the oxidation stability of biodiesel from different feedstocks. It

was reported that the oxidation stability increased with increases in the antioxidant concentration. An increment in the antioxidant concentration results in an increase in the number of hydrogen atoms that then can react with the peroxide radical in the oxidation reaction.

Within the range of concentration studied, the effects of the concentrations of KMO and KMR on the oxidation stability of biodiesel were similar (Fig. 6), probably due to the similarity of their chemical structures. It can be assumed that the hydroxyl group of the fatty acid moiety does not cause any extra protection against oxidation protection. However, the KMR is a liquid with low melting point; this characteristic could imply an advantage using it as additive compared with the KMO which is solid at room temperature.

5. Conclusion

Enzymatic esterification of ricinoleic and kojic acids without any solvent was studied. The results suggest that both Novozym 435 and Lipozyme TL IM can be effectively used for kojic acid monoricinoleate (KMR) production. The optimization of Lipozyme TL IM-catalyzed synthesis of KMR was successfully performed. Under the optimal conditions the esterification process was scaled up using a stirred tank reactor, and the KMR was obtained with a similar yield that the obtained in the small-scale experiment. The esterification of kojic and ricinoleic acids greatly improved the lipophilicity of kojic acid. A significant improvement in oxidative stability of biodiesel has been observed when the KMR was added.

Acknowledgement

The authors gratefully acknowledge financial support of this work by the PRI-PIBAR-2011-1375 and “Ministerio de Economía y Competitividad” (CTQ-2009-09-088).

References

- [1] Rosfarizan M, Mohamed MS, Nurashikin S, Madihah MS, Ariff AB. Kojic acid: applications and development of fermentation process for production. *Biotechnol Mol Biol Rev* 2010;5:24–37.
- [2] Bentley R. From miso, saké and shoyu to cosmetics: a century of science for kojic acid. *Nat Prod Rep* 2006;23:1046–62.
- [3] Chang TS. An updated review of tyrosinase inhibitors. *Int J Mol Sci* 2009;10:2440–75.
- [4] Kang SS, Kim HJ, Jin C, Lee YS. Synthesis of tyrosinase inhibitory (4-oxo-4H-pyran-2-yl)acrylic acid ester derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 2009;19:188–91.
- [5] Kadokawa J, Nishikura T, Muraoka R, Tagaya H, Fukuoka N. Synthesis of kojic acid derivatives containing phenolic hydroxy groups. *Synth Commun* 2003;33:1081–6.
- [6] Kim H, Choi J, Cho JK, Kim SY, Lee YS. Solid-phase synthesis of kojic acid-tripeptides and their tyrosinase inhibitory activity, storage stability, and toxicity. *J Am Oil Chem Soc* 2004;14:2843–6.
- [7] Hsieh H, Giridhar R, Wu W. Regioselective formation of kojic acid-7-O- α -D-glucopyranoside by whole cells of mutated *Xanthomonas campestris*. *Enzyme Microb Tech* 2007;40:324–8.
- [8] Nishimura T, Kometani T, Takii H, Terada Y, Okada S. Comparison of some properties of kojic acid glucoside with kojic acid. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 1995;42:602–6.
- [9] Raku T, Tokiwa Y. Regioselective synthesis of kojic acid esters by *Bacillus subtilis* protease. *Biotechnol Lett* 2003;25:969–74.
- [10] Liu KJ, Shaw JF. Lipase-catalyzed synthesis of kojic acid esters in organic solvents. *J Am Oil Chem Soc* 1998;75:1507–11.
- [11] Khamaruddin NH, Basri M, Lian EGC, Salleh A, Rahman ASR, Ariff A, et al. Enzymatic synthesis and characterization of palm-based kojic acid ester. *J Oil Palm Res* 2009;20:461–9.
- [12] Ashari SE, Mohamad R, Ariff A, Basri M, Salleh AB. Optimization of enzymatic synthesis of palm-based kojic acid ester using response surface methodology. *J Oleo Sci* 2009;58:501–10.
- [13] Piazza GJ, Farrell JHM. Generation of ricinoleic acid from castor oil using the lipase from ground oat (*Avena sativa* L.) seeds as a catalyst. *Biotechnol Lett* 1991;13:179–84.
- [14] Martínez M, Aracil J, El-Boulifi N, Serrano M, inventors. Procedimiento enzimático para la obtención de 12-hidroxi-9-cis-octadecenoato de 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona con actividad antioxidante. Spanish patent ES P201200403; 2012 January 12.

- [15] Martínez M, El-Boulifi N, Aracil J, inventors. Procedimiento para la obtención selectiva de 12-hidroxi-9-cis-octadecenoato de (1,4:3,6-dianhidro-D-glucitol) utilizando lipasas inmovilizadas como catalizador. Spanish patent ES 2334536; 2011 April 17.
- [16] García T, Sánchez M, Martínez M, Aracil J. Enzymatic synthesis of fatty esters: part I. Optimization studies. *Enzyme Microb Tech* 1999;25:591–7.
- [17] Martínez M, Oliveros R, Aracil J. Synthesis of biosurfactants: enzymatic esterification of diglycerol and oleic acid. 1. Kinetic modeling. *Ind Eng Chem Res* 2011;50:6609–14.
- [18] Ashari SE, Rosfarizan M, Aracil J, Martínez M, El-Boulifi N, Ariff A, et al. Kinetics of enzymatic synthesis of palm-based kojic acid ester using an immobilized lipase as catalyst in solvent-free system; submitted for publication.
- [19] Knothe GH. Some aspects of biodiesel oxidative stability. *Fuel Process Technol* 2007;88:677–99.
- [20] Serrano M, Bouaid A, Martínez M, Aracil J. Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: influence of feedstock, commercial additives and purification step. *Fuel* 2013;113:50–8.



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

Título: Procedimiento enzimático para la obtención de 12-hidroxi-9-cis-octadecenoato de 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona con actividad antioxidante.

Inventor/es: M. Martínez Rodríguez, J. Aracil Mira, N. El Boulifi, **M. Serrano Martínez.**

Número de publicación: 2426155

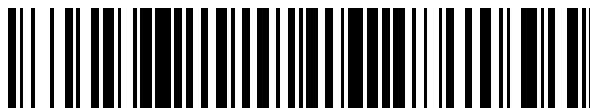
Fecha de la concesión: 23/05/2014.

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 155**

21 Número de solicitud: 201200403

51 Int. Cl.:

C07D 309/40 (2006.01)

C12P 7/64 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

17.04.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

21.10.2013

Fecha de la concesión:

23.05.2014

45 Fecha de publicación de la concesión:

30.05.2014

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
(100.0%)**

**Avda. Séneca 2
28040 Madrid (Madrid) ES**

72 Inventor/es:

**MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, Mercedes;
ARACIL MIRA, José ;
EL BOULIFI, Nourdeddin y
SERRANO MARTÍNEZ, Marta**

74 Agente/Representante:

PLUMET ORTEGA, Joaquín

54 Título: **Procedimiento enzimático para la obtención de 12-hidroxi-9-cis-octadecenoato de 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona con actividad antioxidante**

57 Resumen:

Procedimiento enzimático para la obtención de 12-hidroxi-9-cis-octadecenoato de 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona con actividad antioxidante. Los derivados del ácido kójico, que se emplea como antioxidante y agente blanqueador en cosmética, tienen por objeto mejorar algunas de sus propiedades tales como la estabilidad y solubilidad. En esta invención se describe el procedimiento de obtención un derivado del ácido kójico a través de su esterificación en la posición C-7 con un ácido graso de aceite de ricino empleando lipasas inmovilizadas como catalizador. En el proceso no se emplean disolventes y se alcanzan conversiones superiores al 80% tras 5 horas de reacción. El ricinoleato de ácido kójico obtenido puede emplearse como antioxidante; de forma concreta, se puede emplear como estabilizante del biodiesel de colza y aceites de semilla similares frente a la oxidación.

ES 2 426 155 B2

DESCRIPCIÓN

Procedimiento enzimático para la obtención de 12-hidroxi-9-cis-octadecenoato de 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona con actividad antioxidante.

5

Procedimiento enzimático para la obtención de 12-hidroxi-9-cis-octadecenoato de 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona con actividad antioxidante.

- 10 Los derivados del ácido kójico, que se emplea como antioxidante y agente blanqueador en cosmética, tienen por objeto mejorar algunas de sus propiedades tales como la estabilidad y solubilidad. En esta invención se describe el procedimiento de obtención un derivado del ácido kójico a través de su esterificación en la posición C-7 con un ácido graso de aceite de ricino
- 15 empleando lipasas inmovilizadas como catalizador. En el proceso no se emplean disolventes y se alcanzan conversiones superiores al 80% tras 5 horas de reacción. El ricinoleato de ácido kójico obtenido puede emplearse como antioxidante; de forma concreta, se puede emplear como estabilizante del biodiesel de colza y aceites de semilla similares frente a la oxidación.

20

Sector de la técnica

- La presente invención se refiere a un nuevo derivado del ácido kójico, su método de obtención y su uso como antioxidante. De manera más concreta, la
- 25 invención describe ester de ácido kójico obtenido a partir de un ácido graso de aceite de ricino empleando lipasas como catalizador y su uso como estabilizante de biodiesel frente a la oxidación.

Estado de la Técnica

- 30 El ácido kójico (5-hidroxi-2-hidroximetil-4-pirona) (fórmula II) es una γ -pirona natural que se produce biológicamente por diferentes tipos de hongos (*Penicillium* y *Aspergillus*) durante la fermentación aeróbica utilizando diversos sustratos.

Se utiliza generalmente como agente blanqueador en cosmética debido a su efecto inhibitorio sobre la acción de la tirosinasa, una enzima implicada en la formación de la melanina, que es un factor importante en la determinación del color de la piel humana. Basándose en la actividad inhibidora de tirosinasa, el ácido kójico es ampliamente utilizado en formulaciones cosméticas para la prevención de la hiperpigmentación, tales como los lunares y las pecas (JP5618569). Sin embargo, el ácido kójico es extremadamente inestable con respecto al calor y a su oxidación en agua, cuando se añade a los agentes tópicos de uso dermatológico descomponiéndose con el tiempo y causando coloración. Además, el ácido kójico es soluble en agua y su aplicación en alimentos aceitosos o cosméticos es limitada.

Para superar estos problemas, la patente japonesa JP5492632 revela métodos para mejorar las propiedades del ácido kójico, tales como la estabilidad de almacenamiento, compatibilidad, solubilidad, etc. Además, las patentes JP623820, JP6483008, JP1121205 y JP2028105 describen nuevas composiciones incorporando diversos aditivos para mejorar la solubilidad del ácido kójico y aumentar la actividad de blanqueo de la piel.

Por otra parte, las patentes JP539298, JP6056872, JP5039298 y JP4187618 describen la síntesis de varios derivados del ácido kójico, tales como éteres kójico y ácido kójico glucosilado. Estos derivados, además de tener una alta solubilidad en agua, tienen una fuerte actividad inhibidora de la tirosinasa.

Otros nuevos derivados del ácido kójico son los ésteres del ácido kójico y ácidos grasos. Estos compuestos también se utilizan en cosmética como componentes activos de formulaciones despigmentantes y antienvjecimiento. Además de tener alta estabilidad al pH, luz, calor, etc. tienen mejor estabilidad durante el almacenamiento y son solubles en aceite.

Un ejemplo de síntesis de derivados de ácido kójico a base de ácidos grasos se describe en el documento JP56077272 mediante la esterificación del ácido kójico con derivados de ácidos carboxílicos (butírico, caproico, caprílico, cabrico y oleico) en presencia de piridina. Los rendimientos de los ésteres

- correspondientes son bajos y en ningún caso superan el 45%. El documento CN101759676 describe un nuevo caso de síntesis de derivados de ácido kójico a base de ácidos grasos obteniéndose el ácido kójico dipalmitato por reacción del ácido palmítico con agente de cloración tal como PCl_5 en presencia de
- 5 disolvente orgánico seguido de acilación del ácido kójico con cloruro de ácido obtenido en presencia de piridina. Otra aproximación a la síntesis de derivados del ácido kójico se recoge en la patente US4369174 donde se obtienen dos compuestos: mono- y di-éster de ácido kójico. La síntesis de monoéster se lleva a cabo por reacción del ácido kójico con ácidos carboxílicos alifáticos en
- 10 presencia de cloruro de zinc como catalizador a alta temperatura mientras que la síntesis de diéster se lleva a cabo mediante la reacción de esterificación de ácido kójico con haluros de ácidos carboxílicos alifáticos en presencia de piridina a baja temperatura.
- 15 Por otro lado, la patente EP0320132 describe una enzima inmovilizada que comprende un portador macroporoso insoluble y una enzima lipolítica adsorbida en él que se obtiene por tratamiento del portador con un ácido graso. Esta enzima tiene aplicación en procesos de esterificación y transesterificación donde la inmovilización en presencia de un ácido graso conduce a un mayor
- 20 rendimiento, obteniéndose conversiones próximas al 90% en la esterificación de ácido graso con un monoalcohol o un poliol. Esta patente se refiere, de forma general, al uso de la enzima en procesos de esterificación sin estar orientada a la obtención de un producto concreto.
- 25 El uso de enzimas inmovilizadas para la esterificación del ácido kójico con ácidos grasos elimina los problemas inherentes asociados con el uso de catalizadores químicos. Lui, K.-J. y Shaw, J.-F. (JAOCS, 75(11), 1998) mejoraron la propiedad lipofílica del ácido kójico mediante la esterificación del ácido kójico y ácido láurico y el ácido oleico utilizando lipasa de *Candida*
- 30 *atartctica* y *Pseudomonas capacia*. En este caso, la esterificación se produce en presencia de acetonitrilo como disolvente en el grupo hidroxilo en posición C-5 del ácido kójico. Los autores encontraron que el tiempo de reacción y el contenido en agua añadido fueron las variables más importantes en la producción de monolaureato de ácido kójico. El agua desempeña múltiples

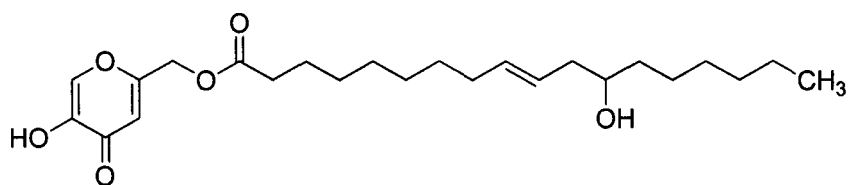
funciones en la esterificación catalizada por lipasas en medios no convenciones y es sabido que el contenido en agua afecta desfavorablemente a la conversión de equilibrio. Posteriormente, Khamaruddin, N.-H et al. (*Journal of Palm Oil Research*, 20, **2008**) trataron de mejorar los rendimientos de Liu por reacción del ácido kójico con aceite de palma empleando lipasas de *Candida rugosa* y *Aspergillus Níger*. Se utiliza acetonitrilo como disolvente y se recupera la enzima por filtración. Se estudia el efecto de la enzima, de la longitud de diferentes ácidos grasos, del disolvente orgánico, la relación molar entre los dos ácidos y la cantidad de agua añadida obteniéndose conversiones en torno al 45%. Ashari, S.-E. et al. (*J. Oleo Sci.*, 58(10), **2009**) optimizaron la síntesis enzimática del ester palmítico del ácido kójico esterificado en la posición C-5 mediante síntesis enzimática con lipasa de *Rhizomucor meihei* inmovilizada sobre resina macroporosa de intercambio aniónico, obteniéndose conversiones menores del 40% tras 24-48 horas de reacción.

Kobayashi, T. et al. (*Biochemical Engineering Journal*, 9, **2001**) esterificaron el ácido kójico en el grupo hidroxilo C-7 con ácido laúrico a escala de decenas de gramos, en sistema semicontinuo, en presencia de acetonitrilo, utilizando lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada y reciclando los productos no reaccionados consiguiendo conversiones inferiores al 50%.

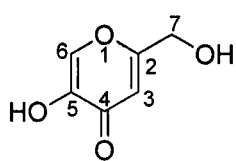
Los ácidos grasos más utilizados para la obtención de ésteres del ácido kójico son ácido laúrico, esteárico, palmítico y oleico. Sin embargo, los ésteres obtenidos, aunque generalmente tienen una fuerte actividad inhibidora de la tirosinasa, son sólidos, menos solubles en agua y se obtienen en muy bajo rendimiento, en presencia de disolvente y con excesivo tiempo de reacción.

Con el fin de resolver los anteriores problemas y obtener con alto rendimiento un nuevo derivado del ácido kójico que tenga mejor propiedad lipofílica e hidrofóbica, se ha llevado a cabo la síntesis de ricinoleato de ácido kójico (fórmula I) a partir de ácido kójico (fórmula II) y ácido ricinoleico (fórmula III). El ácido ricinoleico es el principal componente del aceite de ricino y él mismo se utiliza en productos cosméticos y farmacéuticos como emulsionante. La esterificación entre el ácido ricinoleico y el ácido kójico se realiza sin emplear

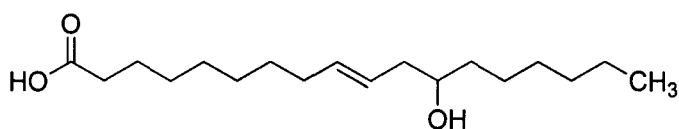
disolventes (el propio ácido ricinoleico se comporta como reactivo y disolvente) y utilizando como catalizadores lipasas inmovilizadas sobre resinas (sin tratamiento previo con un ácido graso). La recuperación del catalizador por filtración, la reutilización del ácido kójico sin reaccionar y el aislamiento del monoéster producido se realiza en un solo paso de purificación. Se consiguen conversiones superiores al 80% y selectividades al monoéster del 100% en la posición C-7 de ácido kójico tras 5 horas de reacción.



(I)



(II)



(III)

Descripción de la invención

En la presente invención se describe un procedimiento de esterificación del ácido ricinoleico (12-hidroxi-9-cis-octadecenoico) con el ácido kójico (5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona) utilizando lipasas de diferentes especies fúngicas y actividad catalítica inmovilizadas en resinas de intercambio aniónico o acrílicas macroporosas, con diferentes diámetros de poro y superficies específicas, obteniéndose altos rendimientos.

Los catalizadores utilizados poseen unas características que permiten dirigir la esterificación entre el ácido ricinoleico y el ácido kójico para conseguir obtener

el monoéster sólo en la posición C-7. Los sistemas catalíticos a los que se refiere la invención son preparados enzimáticos constituidos por lipasas, triacilglicerol hidrolasas (EC 3.1.1.3), producidas por la especie fúngica *Mucor miehi* o la especie fúngica e inmovilizadas sobre resinas de intercambio aniónico o acrílicas macroporosas, con diferentes propiedades para cada una de ellas. Las dos especies enzimáticas pueden ejercer con elevada efectividad la acción de lipasa o la acción carboxilesterasa y, también en ambos casos, la especificidad de dichas enzimas puede ser posicional o no dependiendo el tipo del tipo de sustrato que se desee modificar con ellas. Los sistemas catalíticos tienen un diámetro medio que se encuentra en el rango de 50 a 400 Å, preferentemente entre 120 y 300 Å, siendo el rango en el que se encuentra la superficie específica de 10 a 150 m²/g, preferentemente entre 25 y 100 m²/g.

Los sistemas catalíticos producidos a partir de la especie fúngica *Mucor miehi* tienen una actividad que se encuentra en el rango de 20 a 80 BIUS (número de µmoles de ácido palmítico transformados por trioleína por minuto utilizando la enzima inmovilizada a una temperatura de 40°C). Los sistemas catalíticos producidos a partir de la especie fúngica *Candida antarctica* tienen una actividad que se encuentra en el rango de 5000 a 12000 PLUS/g (número de µmoles de laurato de n-propilo obtenidos partiendo de ácido láurico y 1-propanol durante un tiempo de reacción de 15 minutos, a temperatura de 60°C).

La reacción de esterificación tiene lugar según procedimientos convencionales en un reactor continuo o discontinuo, de tipo tanque agitado o en un reactor cesta o en reactores continuos de tipo lecho fijo o de lecho fluidizado, en el que se encuentra el catalizador enzimático. La reacción se llevó a cabo en un rango de temperaturas de 60 a 80°C, relación molar (alcohol:ácido 4,5:1-1:4,5) preferiblemente (1:3-3:1) y el porcentaje de catalizador (0,5-9%) preferiblemente (3-7%) con respecto a los ácidos.

La reacción se realiza a presión atmosférica o a vacío (760 -1 mmHg) cuando interesa eliminar por evaporación el agua formada. En caso de que el equilibrio se desplace por eliminación de uno de los productos de reacción, por ejemplo

el agua, se alcanzan conversiones superiores al 80%, siendo el tiempo necesario para alcanzar esta conversión de 3 a 7 horas, aunque normalmente el tiempo está comprendido entre 3 y 5 horas.

- 5 El ricinoleato de ácido kójico obtenido por la esterificación descrita se purifica y, posteriormente, se identifica de forma cualitativa y cuantitativa mediante combinación de técnicas tales como espectrometría de infrarrojo, resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C , Dept y HMBC), espectrometría de masas y cromatografía de gases.

10

El derivado de ácido kójico obtenido en la presente invención, al igual que otros antioxidantes secuestradores de radicales libres derivados del ácido kójico, es un poderoso antioxidante. De forma concreta, el ricinoleato de ácido kójico obtenido actúa como estabilizante para ayudar a aumentar la vida útil de los combustibles renovables, como el biodiesel procedente de aceite de colza.

15

Descripción de las figuras

La figura 1 muestra la estructura y el dato espectral (^1H -NMR) del ricinoleato de ácido kójico.

20

La figura 2 representa el espectro bidimensional HMBC (CDCl_3 ; 300MHz) del ricinoleato de ácido kójico.

La Figura 3 muestra el efecto de la concentración del ricinoleato de ácido kójico como antioxidante en la estabilidad a la oxidación del biodiesel procedente de aceite de colza.

25

Modo de realización de la invención

La siguiente invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos que no son, sin embargo, limitativos de su alcance:

30

Ejemplo 1

En este ejemplo se muestra la influencia de la actividad de un catalizador enzimático obtenido a partir de especie fúngica *Mucor miehi*, inmovilizada en

resina de intercambio aniónico, con un diámetro medio de poro de 176 Å, una superficie específica de 60 m²/g y una actividad de 60 BIUS.

- La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 250 ml de capacidad, provisto de un sistema de destilación a vacío. Se introduce en él ácido ricinoleico y ácido kójico en una relación molar 1:1, con una concentración inicial de catalizador enzimático del 5% peso. La temperatura de reacción se mantiene en 70°C, la presión de trabajo en 55 mmHg y la velocidad de agitación es de 600 r.p.m. Después de 5 horas de reacción, la mezcla de reacción se deja enfriar. La enzima y el ácido kójico sin reaccionar se recuperan por filtración para reutilizarlos y el éster resultantes se aísla por cromatografía de columna o a través de neutralización.

Aislamiento del ricinoleato de ácido kójico por cromatografía en columna

- La purificación se realiza por cromatografía flash en columna sobre gel de sílice (sílica gel 60, Merck 230-400 mesh) , empleando como efluentes 800ml de hexano/acetato de etilo en proporción 72:25.

Aislamiento de ricinoleato de ácido kójico por neutralización

- La mezcla de reacción se filtra primero para retirar la enzima y el ácido kójico sin reaccionar. A continuación, el producto se disuelve en éter etílico y el exceso de ácido ricinoleico sin reaccionar se neutraliza por una solución de hidróxido sódico (NaOH). Después de la decantación por centrifuga para separar las dos fases, la fase orgánica se lava con agua y el disolvente y las trazas de agua se eliminan por evaporación a vacío.

- La conversión de ácido ricinoleico fue del 40% y el producto obtenido es un líquido oleoso amarillo a temperatura ambiental. Su estructura se identifica mediante combinación de técnicas tales como cromatografía de gases, espectrometría de masas (EM), infrarrojo y resonancia magnética nuclear (RMN) (¹H, ¹³C, HMQC y HMBC). La tabla 1 muestra los datos espectrales (¹H, ¹³C-NMR y EM) del ricinoleato de ácido kójico obtenido.

Tabla 1

IR (cm⁻¹) (CCl₄)	2924, 2855, 1738, 1630, 1456.
¹H-NMR (300 MHz)	7.79 (1H, s, <i>H</i> ₆), 6.43 (1H, s, <i>H</i> ₃), 5.45-5.32 (2H, m, <i>H</i> _i y <i>H</i> _j), 4.86 (1H, s, <i>H</i> ₇), 3.55 (1H, t, <i>J</i> = 5.7, <i>H</i> _l), 2.35-2.30 (2H, t, <i>J</i> = 7.5, <i>H</i> _b), 2.14 (2H, t, <i>J</i> = 6.6, <i>H</i> _k), 2.00-1.94 (2H, m, <i>H</i> _h), 1.60-1.53 (2H, m, <i>H</i> _c), 1.41-1.33 (2H, m, <i>H</i> _m), 1.23-1.21 (16H, m), 0.82-0.78 (3H, m, <i>H</i> _r).
¹³C-NMR (300 MHz)	174.2, 172.7, 163.0, 162.9, 146.1, 138.7, 130.0, 125.3, 111.5, 71.5, 61.1, 36.8, 35.3, 33.8, 31.8, 29.7 29.5, 29.3, 29.1, 29.0, 27.3, 26.7, 24.7, 22.6, 14.1.
EM m/z (%)	422 (M ⁻ , 19), 421 (M ⁺ , 100), 297 (20).

La figura 1 muestra la estructura química y el espectro ¹H-NMR del producto obtenido.

5

La figura 2 muestra el espectro HMBC donde se observan señales que representan las conectividades entre ¹H y ¹³C en un rango más amplio, hasta tres enlaces, lo cual permite asignar sin lugar a duda la estructura del compuesto obtenido al verse de forma clara que la esterificación ocurrió en la posición C-7 y no en la posición C-5.

10

Ejemplo 2

En este ejemplo se muestra la influencia de la actividad de un catalizador enzimático obtenido a partir de la especie fúngica *Candida antarctica*, inmovilizada en resina acrílica macroporosa, con un diámetro medio de poro de 180 Å, una superficie específica de 95 m²/g y una actividad de 7000 PLUS/g.

15

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 250 ml de capacidad, provisto de un sistema de destilación a vacío. Se introduce en él los ácidos ricinoleico y kójico en una relación molar 1:1, con una concentración de

20

inicial de catalizador enzimático del 5% en peso. La temperatura de reacción se mantiene en 70°C, la presión de trabajo en 55 mmHg y la velocidad de agitación en 600 r.p.m. Después de 5 horas de reacción la conversión de ácido ricinoleico fue del 79%. La formación de monoéster se produjo en el grupo hidroxilo en posición C-7 de ácido kójico.

Ejemplo 3

En este ejemplo se muestra la influencia de la actividad de un catalizador enzimático obtenido a partir de especie fúngica *Candida antarctica* inmovilizada en resina acrílica macroporosa con un diámetro medio de poro de 210Å, una superficie específica de 67 m²/g y una actividad de 7800 PLUS/g.

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 250 ml de capacidad, provisto de un sistema de destilación a vacío. Se introducen los ácidos ricinoleico y kójico en una relación molar 1:1, siendo la concentración inicial de catalizador del 5% en peso. La temperatura de reacción se mantuvo en 70°C, la presión de trabajo en 55 mmHg y la velocidad de agitación en 800 r.p.m. Después de 5 horas de reacción la conversión del ácido kójico fue del 49%.

Ejemplo 4

En este ejemplo se muestra la influencia de la temperatura de reacción. Se realiza la reacción con el mismo sistema catalítico y en las mismas condiciones descritas en el ejemplo 2 salvo la temperatura de reacción que se mantiene en 80°C. Después de 5 horas de reacción la conversión fue del 83%.

Ejemplo 5

En este ejemplo se muestra la influencia de la concentración inicial de catalizador. Se realiza la reacción con el mismo sistema catalítico y las mismas condiciones descritas en el ejemplo 2 salvo la concentración inicial de catalizador que se fijó en 7,8% en peso. Después de 5 horas de reacción la conversión de ácido fue del 85%

Ejemplo 6

En este ejemplo se muestra la influencia de la presión de trabajo. Se realiza la reacción con el mismo catalizador y condiciones de reacción del ejemplo 5, salvo la presión de trabajo que se mantuvo en 380 mmHg. Después de 5 horas de reacción la conversión de ácido fue del 71%.

5

Ejemplo 7

En este ejemplo se muestra la influencia de la relación molar alcohol:ácido. Se realiza la reacción con el mismo catalizador y condiciones de reacción del ejemplo 2, salvo la relación molar alcohol/ácido, que se fijó en 3. Después de cinco horas de reacción, la conversión de ácido fue del 46%.

10

Ejemplo 8

En este ejemplo se muestra la influencia de la velocidad de agitación. Se realiza la reacción con el mismo catalizador y condiciones de reacción del ejemplo 2, salvo la velocidad de reacción que se fijó en 100 r.p.m. Después de cinco horas de reacción, la conversión de ácido fue del 35%.

15

Ejemplo 9

En este ejemplo se muestra la influencia de la actividad de un catalizador enzimático obtenido a partir de especie fúngica *Candida antarctica*, inmovilizada en resina acrílica macroporosa, con un diámetro medio de poro de 180 Å, una superficie específica de 95 m²/g y una actividad de 7000 PLUS/g.

20

La reacción se lleva a cabo en un reactor tipo cesta de 250 ml de capacidad y una luz de malla de 300 µm, provisto de un sistema de destilación a vacío. Se introducen en él ácidos ricinoleico y kójico en una relación molar 1:1, con una concentración inicial de catalizador enzimático del 5% en peso. La temperatura de reacción se mantuvo en 70°C, la presión de trabajo en 55 mmHg y la velocidad de agitación en 700 r.p.m. Después de 5 horas de reacción la conversión de ácido fue del 75%:

25

30

Ejemplo 10

En este ejemplo se ilustra la influencia de la luz de malla. Se realiza la reacción del ejemplo 9 con el mismo catalizador y condiciones de operación salvo la luz

de malla que se fijó en 400 μm . Después de 5 horas de reacción la conversión de ácido fue del 84%.

Ejemplo 11

- 5 En un lecho de capacidad extensible, con un diámetro de 1,6 cm y una altura de 6 cm, provisto de una camisa para termostatar la operación, se introducen 4,5 g de enzima inmovilizada. A través del mismo se hace circular una mezcla de ácido ricinoleico y ácido kójico en una relación molar 1:1 a un caudal de 1ml/min. El catalizador enzimático empleado es el obtenido a partir de la
- 10 especie fúngica *Candida antarctica*, inmovilizada en resina acrílica macroporosa, con un diámetro medio de poro de 180 Å, una superficie específica de 95 m²/g y una actividad de 7000 PLUS/g. La temperatura de reacción se mantuvo en 70°C, la presión de trabajo en 760 mmHg. El tiempo de residencia medio fue de 1,3 horas y la conversión del ácido fue del 16%.

15

Ejemplo 12

En este ejemplo se usa un ricinoleato de ácido kójico como estabilizante del biodiesel.

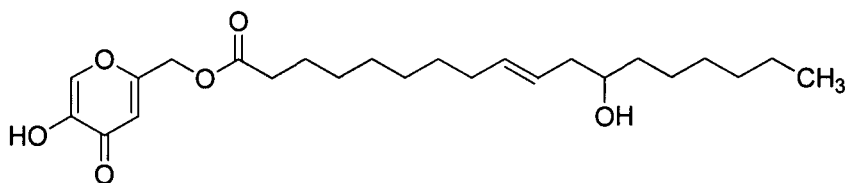
- 20 Se prepara 3 g de biodiesel de colza y se añade el antioxidante de la presente invención. El rango de las concentraciones de antioxidante es 0-2044 ppm. La estabilidad a la oxidación de las muestras se mide por el tiempo de inducción de acuerdo con la norma europea EN1112 utilizando un instrumento Rancimat 734.

25

- El tiempo de inducción se mide como una indicación de la estabilidad a la oxidación del biodiesel. La figura 3 muestra el efecto de la concentración de antioxidante en la estabilidad a la oxidación. El tiempo de inducción de biodiesel de colza sin antioxidante es de 4,75 horas, inferior al valor estándar de la estabilidad a la oxidación de 6 h (Knothe, G. *Fuel Processing Technology*, **88**(7), **2007**). El tiempo de inducción del biodiesel aumenta con la
- 30 concentración del compuesto de fórmula I hasta llegar a 6,30 horas.

Reivindicaciones

1. Derivado del ácido kójico de fórmula (I):



(I)

2. Procedimiento de obtención del compuesto de formula I por esterificación selectiva del ácido ricinoleico con ácido kójico empleando como sistema catalítico lipasas inmovilizadas.

3. Procedimiento, según reivindicación 2, donde las lipasas provienen de las especies fúngicas *Mucor miehi* y *Candida antarctica*.

4. Procedimiento, según reivindicaciones 2 y 3, donde las lipasas están inmovilizadas en resinas de intercambio aniónico o acrílicas porosas.

5. Procedimiento, según reivindicaciones anteriores, donde el sistema catalítico tiene un diámetro de poro entre 50 y 400 Å.

6. Procedimiento, según reivindicaciones anteriores, donde la reacción de esterificación se realiza a una temperatura entre 60-80°C y con una concentración de catalizador entre 3-7%.

7. Procedimiento, según reivindicaciones anteriores, donde la reacción de esterificación se realiza a una relación molar alcohol:ácido entre 1:3 y 3:1.

8. Procedimiento, según reivindicaciones anteriores, donde la reacción de esterificación se lleva a cabo a una presión entre 1 y 760 mmHg.

9. Procedimiento, según reivindicaciones anteriores, donde el tiempo de reacción varía entre 2 y 5 horas para alcanzar una conversión superior o igual al 85%.

5 10. Procedimiento, según reivindicaciones anteriores, donde la esterificación tiene lugar en un reactor tanque agitado, continuo o discontinuo.

11. Procedimiento, según reivindicaciones 2 a 6, donde la esterificación tiene lugar en un reactor tipo cesta, continuo o discontinuo.

10

12. Procedimiento, según reivindicaciones 2 a 6, donde la esterificación tiene lugar en un reactor tipo lecho fijo o lecho fluidizado.

13. Uso del compuesto de fórmula (I) como antioxidante.

15

14. Uso del compuesto de fórmula (I), según reivindicación 12, como estabilizante del biodiesel de colza y aceites de semilla similares frente a la oxidación.

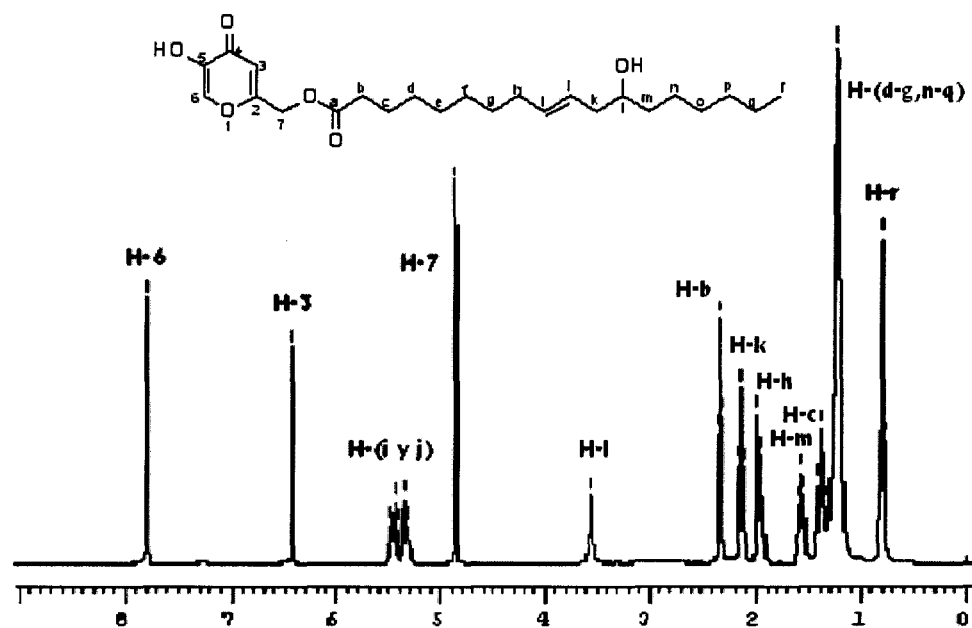


Figura 1

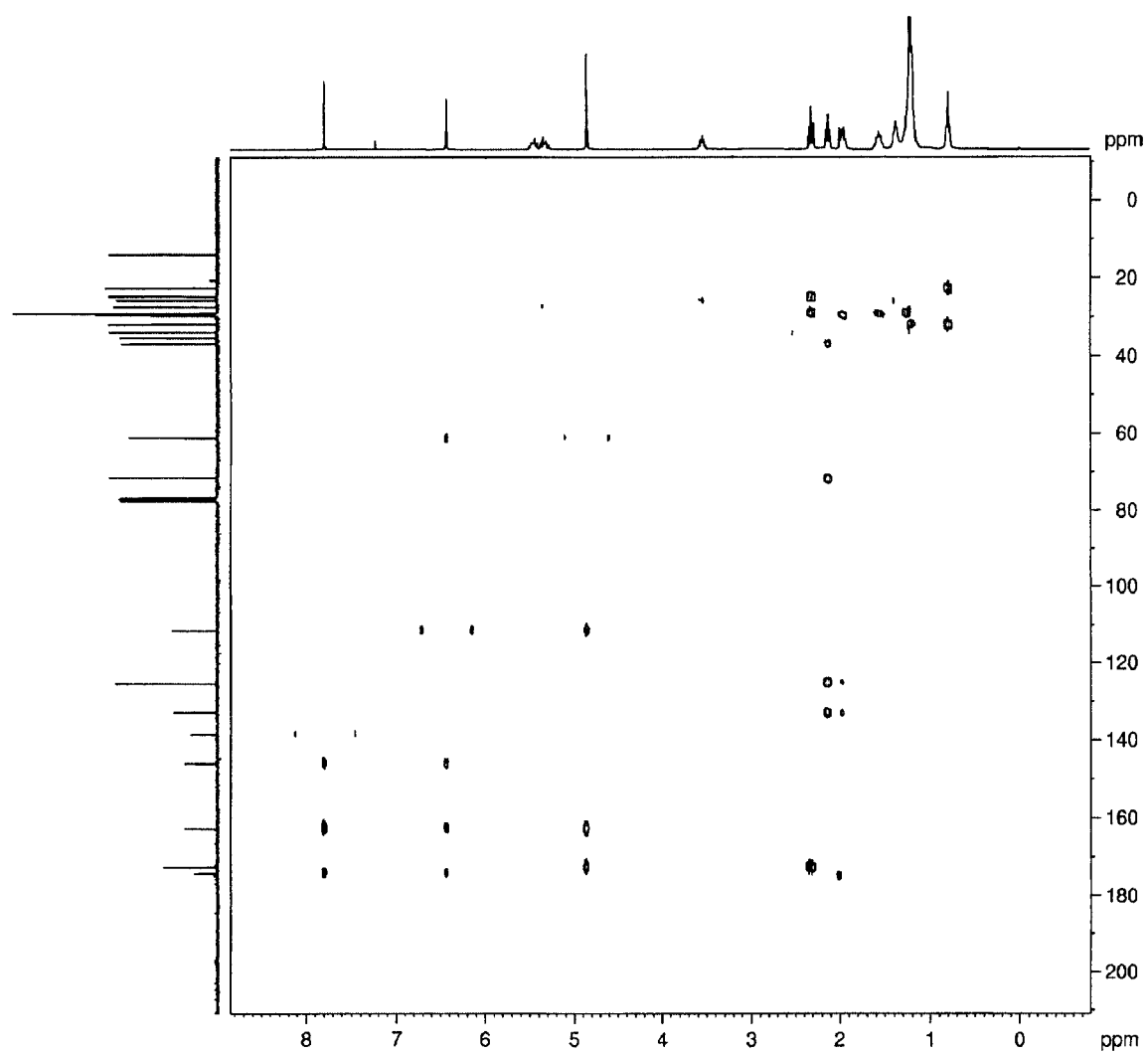


Figura 2

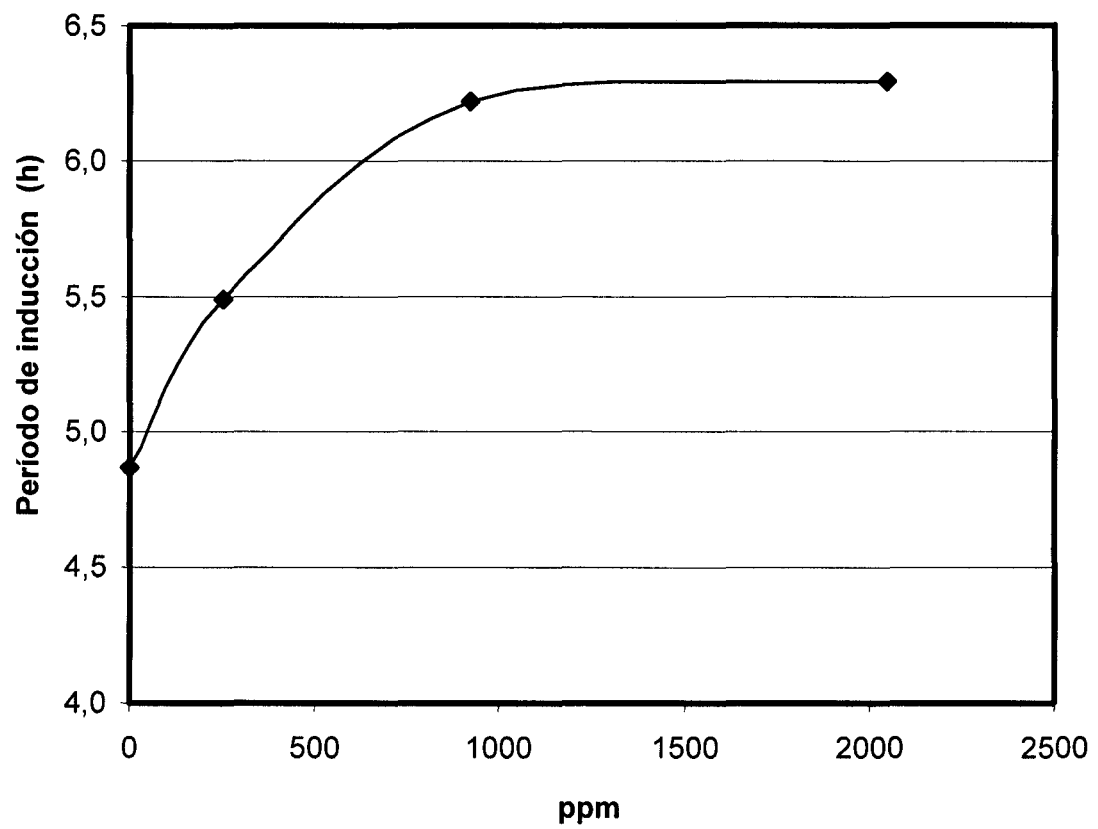


Figura 3



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201200403

②② Fecha de presentación de la solicitud: 17.04.2012

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **C07D309/40** (2006.01)
C12P7/64 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	S ASHARI et al., Journal Oleo Science 2009, vol 58, nº 10, págs 503-510. "Optimization of enzymatic synthesis of palm-based kojic acid ester", todo el documento.	1-12
Y	N KHAMARUDDIN et al., Journal Oil Palm Research 2008, vol 20, págs 461-469. "Enzymatic synthesis and characterization of palm-based kojic acid ester", todo el documento.	1-12
Y	K LIU et al., Journal American Oil Chemist Society 1998, vol 75, nº 11, págs 1507-1511. "Lipase-catalyzed synthesis of kojic acid esters in organic solvents", todo el documento.	1-12
A	JP 2001131572 A (RIKEN VITAMIN) 15.05.2001, resumen	13,14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
18.10.2012

Examinador
M. P. Fernández Fernández

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07D, C12P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAS

OPINIÓN ESCRITA

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 18.10.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-14	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 13,14	SI
	Reivindicaciones 1-12	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	S ASHARI et al., Journal Oleo Science 2009, vol 58, nº 10, págs 503-510. "Optimization of enzymatic synthesis of palm-based kojic acid ester", todo el documento.	2009
D02	N KHAMARUDDIN et al., Journal Oil Palm Research 2008, vol 20, págs 461-469. "Enzymatic synthesis and characterization of palm-based kojic acid ester", todo el documento.	2008
D03	K LIU et al., Journal American Oil Chemist Society 1998, vol 75, nº 11, págs 1507-1511. "Lipase- catalyzed synthesis of kojic acid esters in organic solvents", todo el documento.	1998
D04	JP 2001131572 A (RIKEN VITAMIN)	15.05.2001

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud se refiere al éster del ácido ricinoleico con ácido kójico de fórmula (I) (reivindicación 1), procedimiento para su obtención utilizando lipasas de *Mucor meiei* y *Candida antarctica* como sistema catalítico (reivindicaciones 2-12) y su uso como antioxidante y estabilizante de aceites de semillas y biodiesel de colza (reivindicaciones 13 y 14).

El documento D1 divulga la síntesis del monooleato del ácido kójico utilizando lipasa inmovilizada de *Mucor meihei* para catalizar la esterificación, ver resumen de D1. Se evalúan los parámetros para determinar las condiciones óptimas de la esterificación enzimática y su uso a escala industrial, tales como cantidad de enzima, temperatura, tiempo de reacción y relación molar ácido kójico : ácido oleico. El documento D2 (ver resumen) divulga la síntesis de ésteres de ácido kójico con varios ácidos grasos de 18 C, ver tablas 3 y 4 de D2, utilizando como catalizador lipasa de *Pseudomonas* o *Candida* (tabla 2); también se determinan las condiciones de reacción más favorables.

El documento D3 divulga la síntesis del monooleato y el monolaurato de ácido kójico utilizando varias lipasas, entre ellas *C. antarctica* y *Mucor miehei* (tabla 1) y se optimizan los parámetros de reacción.

El documento D4 divulga el uso como antioxidante para aceites y grasas de una composición que contiene ácido kójico y un éster glicérido de ácido ricinoleico. No se menciona la utilización de un éster de ácido graso con ácido kójico.

Los documentos D1, D2 y D3 divulgan la esterificación de ácido kójico con varios ácidos grasos usando como catalizador varias lipasas, entre ellas las de la reivindicación 3 de la solicitud. No se ha encontrado divulgado en el estado de la técnica el ricinoleato de ácido kójico, sin embargo no se aprecia actividad inventiva al hecho de utilizar un ácido graso no empleado anteriormente pues la invención de la solicitud simplemente selecciona un ácido graso C18 de los varios posibles y usa el mismo procedimiento biocatalítico ampliamente divulgado en el estado de la técnica.

En consecuencia, se considera que las reivindicaciones 1-14 de la solicitud cumplen el requisito de novedad y las reivindicaciones 1-12 carecen de actividad inventiva, según lo establecido en los Art. 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

SOLICITUD DE PATENTE

Título: Proceso integrado de obtención de alcoholes monoinsaturados, biodiesel y productos biodegradables a partir de aceite de Jojoba.

Inventor/es: J. Aracil Mira, M. Martínez Rodríguez, N. El Boulifi, M. Sánchez Rodríguez, M. Serrano Martínez.

Número de publicación: 2494620

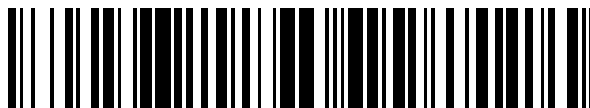
Fecha de la solicitud: 15/09/2014.

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 494 620**

21 Número de solicitud: 201300261

51 Int. Cl.:

C07C 33/025 (2006.01)

C07C 69/52 (2006.01)

C07C 67/03 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

15.03.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

15.09.2014

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
(100.0%)**

**Avenida de Séneca, 2
28040 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**ARACIL MIRA, José;
MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, Mercedes;
EL BOULIFI, Nourdeddin;
SÁNCHEZ RODRÍGUEZ, Marcos y
SERRANO MARTÍNEZ, Marta**

74 Agente/Representante:

PLUMET ORTEGA, Joaquín

54 Título: **Proceso integrado de obtención de alcoholes monoinsaturados, biodiesel y productos biodegradables a partir de aceite de Jojoba**

57 Resumen:

Proceso integrado de obtención de alcoholes monoinsaturados, biodiesel y productos biodegradables a partir de aceite de jojoba. Se transesterifica aceite de jojoba en presencia de alcoholes de bajo y medio peso molecular empleando catalizadores enzimáticos, heterogéneos u homogéneos. El producto de reacción se somete a varias etapas de cristalización en un sistema de disolventes orgánicos puros o mezcla disolvente polar/apolar.

El proceso permite la obtención de diferentes mezclas de alcoholes grasos insaturados de alta pureza en forma de líquido oleoso útil para la administración transdérmica de agentes farmacológicos. Como producto secundario se obtienen ésteres monoalquílicos que pueden utilizarse como biodiesel o como productos biodegradables.

ES 2 494 620 A1

DESCRIPCIÓN

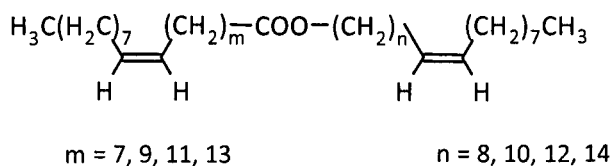
Proceso integrado de obtención de alcoholes monoinsaturados, biodiesel y productos biodegradables a partir de aceite de Jojoba.

5 Sector de la Técnica

La presente invención se refiere a un procedimiento para llevar a cabo la obtención integrada de diferentes mezclas compuestas por alcoholes alifáticos primarios monoinsaturados y esteres monoalquílicos a partir de aceite de Jojoba. El procedimiento consiste en la transesterificación catalítica de aceite de Jojoba con alcoholes de cadena corta y mediana que da lugar a una mezcla de alcoholes alifáticos primarios monoinsaturados y esteres monoalquílicos de ácidos de Jojoba y la posterior separación de los mismos. Los alcoholes obtenidos tienen entre 18 y 24 átomos de carbono. Estas mezclas de alta pureza se usan en las composiciones farmacéuticas, productos alimenticios y suplementos dietéticos. Más específicamente para el tratamiento tópico de infecciones subdérmicas tales como infecciones por virus herpes y la administración transdérmica de agentes farmacológicos para el tratamiento de diversos trastornos. Por otro lado, la mezcla de esteres monoalquílicos puede ser utilizada como biodiesel y como productos biodegradables.

Estado de la técnica

El aceite de Jojoba (*Simmondsia chinensis*) es un producto natural que se extrae de las semillas de la planta que lleva su nombre y que es un arbusto originario del desierto de Sonora, al norte de México y sudoeste de EE.UU. A diferencia de otros aceites obtenidos de plantas o de pescados, el aceite de Jojoba no está compuesto por triglicéridos, sino por una mezcla de ésteres lineales compuestos principalmente de alcoholes y ácidos carboxílicos ambos de cadena larga (Wisniak, *The Chemistry and technology of Jojoba oil*, publ. by *American Oil Chemists Society*, Champaign, Illinois, 272 pp, **1987**). Estos ésteres tienen dos dobles enlaces, en configuración cis, uno a cada lado del grupo éster en la posición 9-Omega (Fórmula I).



(I)

5

El aceite de Jojoba ha estado disponible comercialmente desde hace más de cincuenta años, y varios millones de kilos se utilizan al año en formulaciones farmacéuticas y cosméticas. Es reconocido como seguro para usos cosméticos (*J. Amer. Coll. Toxicol.*, 11(1): 57-74, **1992**). Numerosas pruebas han demostrado que su uso tópico en humanos es seguro y no tóxico, de igual modo que su administración vía oral a ratones, ratas y conejos (Taguchi y Kunimoto, *cosmetics and toiletries*, 92: 53-61, **1977**; Clark y Yermanos, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 102(2): 1409-1415, **1981**; Hamm, *J. Food Sci.*, 49: 417-428, **1984**; Verschuren y Nugteren, *Food Chem. Toxicol*, 27: 45-48, **1989**). Los seres humanos que han ingerido semillas de Jojoba, con un contenido en aceite de aproximadamente del 50%, no han sufrido efectos adversos, si bien la ingesta de 200 gramos puede producir náuseas. El aceite de Jojoba es empleado también como promotor de eficacia terapéutica de otros principios activos, ya que aumenta la absorción percutánea y la acumulación en la epidermis, y es capaz de actuar como un portador de los principios activos a la capa profunda de la piel para realizar su función US6559182. Sin embargo, el aceite de Jojoba por sí mismo utilizado directamente como portador, sólo es capaz de disolver los principios activos lipófilicos, pero no es útil como portador de principios activos hidrófilicos.

25

Verbiscar et al. (*J. Agric Food Chem.*, 28: 571-578, **1980**), en un estudio sobre la administración oral del aceite de Jojoba para ratones, demostró que el aceite de Jojoba actúa como un lubricante intestinal, y se estima que aproximadamente el 20% de aceite de Jojoba se hidroliza por las esterasas en el sistema gastrointestinal, produciendo así alcoholes de Jojoba *in situ*.

30

Después de la absorción dérmica, el aceite de Jojoba también se metaboliza parcialmente a los correspondientes alcoholes. Por lo tanto, un nuevo portador derivado del aceite de Jojoba, como la mezcla de alcoholes, puede ser capaz de transportar una amplia gama de principios activos, ya sea
5 lipófilos o hidrófilos, presentando además las ventajas propias de los portadores acuosos frente a los oleosos.

Los alcoholes grasos insaturados representan productos intermedios importantes para un gran número de productos de la industria química, tal
10 como por ejemplo para la obtención de tensioactivos, en aplicaciones directas farmacéuticas, cosméticas, o como auxiliares textiles (Monick, J.-A., *JAOCS*, 56: 853-860, **1979**). Los alcoholes de cadena de 16 a 20 átomos de carbono y de 1 a 4 dobles enlaces son antiproliferativos y antivirales contra virus con envoltura (Sands, J. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 15: 67-73, **1979**).
15 Estos alcoholes insaturados fueron más potente in vitro que los alcoholes saturados de cadena más corta (Snipes, W. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 11: 98-104, **1977**). La patente US4513008 describe la inhibición de virus encapsulados como el herpes con ácidos, aldehídos o alcoholes primarios lineales poliinsaturados de cadena de 20 a 24 carbonos y de 5 a 7
20 dobles enlaces. Posteriores investigaciones dieron lugar al desarrollo de n-docosanol como un tratamiento tópico para las infecciones de herpes.

La obtención de alcoholes grasos insaturados no se consigue a base de materias primas y de procedimientos petroquímicos, por el contrario debe
25 partirse de materias primas naturales más o menos insaturadas. La producción industrial actualmente se basa en la hidrogenación a alta presión (260-300 °C y 25-30 MPa) de metilésteres y ácidos grasos, obtenidos respectivamente mediante transesterificación e hidrólisis o saponificación del aceite (Kreutzer, U.-R. *JAOCS*, 61(2), 343-348, **1984**; Voeste, T. y Buchold, H., *JAOCS*, 61(2), 350-352, **1984**). Numerosas patentes norteamericanas describen la fabricación de alcoholes de cadena larga, ya sea a partir de cera
30 de abeja o de caña de azúcar, entre las que cabe mencionar: US6596776,

US6225354, US5856316 y US5663156. Estas patentes reivindican procesos de aislamiento de los alcoholes, directamente o después de la saponificación de los ésteres existentes en la cera. Sin embargo, solo existen 2 ejemplos de preparación de alcoholes a partir de aceite de Jojoba. El primero lo describe

5 Molaison, L.-J (*JAOCS*, 36: 379-382, **1959**). Este procedimiento se basa en la hidrogenólisis del aceite usando sodio como agente reductor y en presencia de un alcohol. A diferencia de la hidrólisis química donde los ácidos grasos permanecen intactos y deben ser separados de los alcoholes en la mezcla, en esta reacción, el ácido carboxílico del éster se convierte en su

10 correspondiente alcohol. La hidrogenólisis duplica la cantidad de alcoholes que se puede obtener a partir de aceite de Jojoba. La composición real de alcoholes de Jojoba varía de acuerdo con la fuente del aceite. Las cantidades relativas de los componentes individuales de alcoholes en Jojoba dependerán de la composición de ésteres de aceite de Jojoba. Un producto de alcoholes

15 de Jojoba preparado por hidrogenólisis resultó en una mezcla de 6% octadec-9-enol, 62% eicos-11-enol, 28% docos-13-enol y 4% tetracos-15-enol (Taguchi, *Proc. Sixth Int. Conf. Jojoba and its use*, eds. Wisniak and Zabicki, Ben-Gurion Negev Univ., Negev, Beer-Shiva, Israel, pp 371-391, **1984**). Posteriormente, Verbiscar, A.-L en la patente US6703052 trató de mejorar el

20 rendimiento de Molaison por hidrogenólisis de aceite de Jojoba empleando un nuevo agente reductor. La preparación implica la hidrogenólisis de aceite de Jojoba con hidruro de sodio bis-(2-metoxietoxi) aluminio empleando tolueno seco como disolvente. En la misma patente se describe también la obtención de una mezcla de alcoholes de cadena larga como los encontrados en aceite

25 de Jojoba a partir del aceite de la esperma de ballena, aplicando el mismo proceso de hidrogenólisis mencionado anteriormente.

En resumen, la mayor parte de los procedimientos de fabricación de alcoholes derivados de aceite de Jojoba o de otros, presentan una serie de

30 inconvenientes: Durante la saponificación del aceite o la cera (un éster o triglicérido) con álcali fuerte, se forman como subproductos sales de metales alcalinos de los ácidos carboxílicos de alto peso molecular. La presencia de

estas sales, obviamente, plantea un obstáculo para la purificación y recuperación de los alcoholes obtenidos a partir de cera o aceite obtenidos mediante este método. Otro procedimiento que presenta inconvenientes para la obtención de alcoholes es la hidrogenación. Dentro de estos
5 inconvenientes cabe resaltar las condiciones severas de reacción, además de que los alcoholes obtenidos tienen un índice de yodo menor; son hidrogenados y son de tipo céreo, ya que el agente reductor puede reducir también el doble enlace carbono-carbono.

10 Para resolver estos inconvenientes se ha desarrollado en la presente invención, un procedimiento para la obtención de mezclas de alcoholes monoinsaturados de Jojoba, que consiste en (1) la descomposición del aceite de Jojoba a través de reacción de transesterificación (2) separación de la
15 mezcla de alcoholes monoinsaturados y de los ésteres alquílicos. La etapa de separación (2) puede desarrollarse por dos vías diferentes: por cromatografía flash en columna sobre gel de sílice y fraccionamiento de la mezcla de alcoholes obtenida mediante cristalización criogénica o la separación directa de los alcoholes y ésteres resultante de la reacción de transesterificación por
20 cristalización fraccionada. La transesterificación se lleva a cabo usando diferentes alcoholes de bajo y medio peso molecular y en presencia de catalizadores enzimáticos, heterogéneos que al terminar la reacción se recuperan por filtración.

Este procedimiento de purificación, además de permitirnos obtener diferentes
25 mezclas de alcoholes alifáticos monoinsaturados de Jojoba, se obtiene una mezcla de ésteres monoalquílicos de los ácidos grasos de Jojoba como subproductos que tienen muchas aplicaciones como biodiesel y como productos biodegradables.

30 Otra novedad de la presente invención, consiste en que al contrario que en la mayoría de las mezclas de alcoholes monoinsaturados de cadena larga descritas en la bibliografía (que se obtienen en forma de cera o sólidos de

bajo punto de fusión) se obtiene 3 diferentes mezclas de alcoholes, una sólida y dos líquidas a temperatura ambiente. Esta característica hace que las mezclas de alcoholes de Jojoba sean fácilmente absorbidas por la piel humana, al igual que el aceite de Jojoba. A diferencia del aceite de Jojoba, estos alcoholes no requieren un portador o agente tensioactivo para facilitar la penetración transdérmica.

Descripción detallada de la invención

Proceso integrado de obtención de alcoholes monoinsaturados, biodiesel y productos biodegradables a partir de aceite de Jojoba.

El objeto de la invención es proporcionar un proceso integrado para la producción de 3 mezclas de alcoholes monoinsaturados, con actividad farmacológica dentro del grupo de antivirales, y una mezcla de ésteres monoalquílicos, con aplicaciones como biodiesel y como productos biodegradables a partir de aceite de Jojoba (Figura 1) que comprende las siguientes etapas:

La primera etapa del proceso aquí descrito, es un procedimiento que consiste en someter el aceite de Jojoba a descomposición a través de una reacción de transesterificación, usando diferentes alcoholes de bajo y medio peso molecular. Los alcoholes empleados son metanol y octanol de origen petroquímico, y por otra parte etanol y butanol, obtenidos por fermentación de biomasa. En dicha reacción de transesterificación se han empleado catalizadores enzimáticos, heterogéneos y homogéneos.

Este procedimiento se amplía a fracciones líquidas y sólidas del aceite de Jojoba, las cuales se han obtenido mediante un proceso criogenización controlado a temperaturas entre 6 y 10 °C y tiempo de operación entre 1h y 36h.

Las enzimas utilizadas en la presente invención, son de determinadas características, consiguiendo que la transesterificación alcance conversiones superiores al 90%. Los sistemas catalíticos a los que se refiere la invención son preparados enzimáticos constituidos por lipasas, triacilglicerol hidrolasas
 5 (EC 3.1.1.3), producidas por la especie fúngica *Mucor miehi* o la especie fúngica *Candida antarctica*, e inmovilizadas sobre resinas de intercambio aniónico o acrílicas macroporosas, con diferentes propiedades cada una de ellas. Las dos especies enzimáticas pueden ejercer con elevada efectividad la acción de lipasa o la acción carboxilesterasa y, también en ambos casos, la
 10 especificidad de dichas enzimas puede ser posicional o no dependiendo del tipo de sustrato que se desee modificar con ellas. Los sistemas catalíticos tienen un diámetro medio que se encuentra en el rango de 50 a 400 Å, preferentemente entre 120 y 300 Å, siendo el rango en el que se encuentra la superficie específica de 10 a 150 m²/g, preferentemente entre 25 y 100 m²/g.

15

Los sistemas catalíticos producidos a partir de la especie fúngica *Mucor miehi* tienen una (número de μmoles de laurato de n-propilo obtenidos partiendo de ácido laúrico y 1-propanol durante un tiempo de reacción de 15 minutos, a temperatura de 60°C). actividad que se encuentra en el rango de 20 a 80
 20 BIUS (número de μmoles de ácido palmítico transformados por trioleína por minuto utilizando la enzima inmovilizada a una temperatura de 40°C). Los sistemas catalíticos producidos a partir de la especie fúngica *Candida antarctica* tienen una actividad que se encuentra en el rango de 5000 a 12000 PLUS/g

25

Los catalizadores básicos heterogéneos utilizados en la presente invención son: Na/γ-Al₂O₃, K/γ-Al₂O₃, Li/γ-Al₂O₃ y Ca/γ-Al₂O₃ (10% de contenido en metal) que comprenden una combinación formada entre un hidróxido metálico (LiOH, NaOH, KOH, Ca(OH)₂ y Ba(OH)₂.8H₂O) y alúmina (γ-Al₂O₃).

Los catalizadores básicos homogéneos utilizados son: NaOH y KOH con una pureza del 99%, NaOCH₃ y KOCH₃ en forma de disoluciones en metanol (32%).

En la reacción de transesterificación se puede utilizar tanto reactores agitados
5 trabajando en discontinuo como en continuo bien sea tipo agitado o lecho fijo. En el caso de trabajar en régimen discontinuo, el reactor agitado se carga con el aceite de Jojoba, el alcohol y el catalizador y se procede a realizar la reacción de transesterificación.

10 En el caso de utilizar reactores agitados pero trabajando en continuo, la vasija del reactor se carga inicialmente con la mezcla de alcohol y el catalizador y una vez se alcanzan las condiciones de trabajo de la reacción se comienza a alimentar el aceite con el caudal requerido. Si se emplea un reactor tipo lecho fijo se carga el catalizador en el reactor y una vez que el lecho catalítico
15 alcance las condiciones de trabajo de presión y temperatura se hace pasar la mezcla aceite-alcohol con el caudal requerido.

La reacción se lleva a cabo en un rango de temperatura comprendido entre 60 y 95°C (dependiendo del alcohol y del sistema catalítico utilizado),
20 utilizando una relación molar aceite:alcohol comprendido entre 1:1 y 1:6 preferiblemente (1:1-1:4.5), siendo la cantidad de catalizador utilizada de entre el 5 y 7%, para catalizadores heterogéneos y enzimáticos y de entre 0.5 y 1.5% para catalizadores homogéneos, con respecto al peso total de reactivos. La reacción se lleva a cabo a presión atmosférica, con una
25 velocidad de agitación de entre 300 a 700 rpm y un tiempo de reacción de entre 3 y 10h.

Al terminar la reacción, después de eliminar catalizador y el alcohol en exceso, se procede a la purificación de alcoholes.

30

Los alcoholes y ésteres presentes en el medio de reacción se someten a un proceso de separación. Como se ha mencionado anteriormente, la

separación de los productos transtesterificados se puede llevar a cabo mediante cromatografía flash en columna y su posterior fraccionamiento de la mezcla de alcoholes o por un fraccionamiento directo por recristalización. La mezcla de alcoholes alifáticos obtenidos a partir de aceite de jojoba, contienen entre 18 a 24 átomos de carbono con la siguiente composición cuantitativa:

	9-octadecenol	C _{18:1}	0-1%
	11-eicosenol	C _{20:1}	36-40%
10	13-docosenol	C _{22:1}	43-49%
	15-tetracosenol	C _{24:1}	9-10%

La mezcla de alcoholes obtenida por cromatografía flash en columna se fracciona por cristalización criogénica en sistemas de disolventes. El procedimiento seguido es el siguiente: una cantidad determinada de disolvente polar como por ejemplo éter etílico, acetona, tetrahidrofurano, diclorometano, acetato de etilo, metanol o etanol, es añadida en caliente a la mezcla de alcoholes obtenida por columna. Se somete a agitación y tras 10 minutos se añade un disolvente apolar tal como hexano, pentano u heptano. La concentración de la mezcla de alcoholes, usualmente es de 8 hasta 20 y, preferiblemente de 12 hasta 15% en peso en un sistema de disolventes, que puede ser en forma pura o en forma de mezcla de disolventes apolar:polar. La proporción de disolvente apolar/polar es de 1 hasta 8 y, preferentemente, de 2 hasta 4. La solución formada, se deja a cristalizar a una temperatura comprendida entre -25 °C y -15 °C, preferentemente, entre -18 y -20 °C durante 24h. El sólido blanco obtenido se separa por filtración utilizando un embudo Büchner, que ha sido previamente enfriado y se lava con un disolvente apolar a baja temperatura (se usa el hexano en la mayoría de los casos); se elimina el disolvente bajo presión reducida para dar lugar a la primera fracción sólida que contiene el alcohol, C_{24:1}. Las aguas madres resultantes se concentran, se recicla recristalizándose de la misma manera que la anterior, la única diferencia es que la concentración del soluto en el

sistema de disolventes es mayor en este caso que la primera recristalización. La fracción obtenida en la segunda recristalización es líquida y ésta enriquecida con los alcoholes; C_{22:1} y C_{24:1}. Las aguas madres finales se concentraron para dar lugar a una mezcla líquida de alcoholes; C_{18:1}, C_{20:1} y C_{22:1}.

La mezcla cruda líquida de alcoholes, obtenida directamente por cromatografía en columna, o bien; las 3 fracciones obtenidas por cristalización criogénica de la misma, se pueden utilizar tal cual o reformulada para el tratamiento tópico de infecciones subdérmicas tales como infecciones por virus herpes y la administración transdérmica de agentes farmacológicos para el tratamiento de diversos trastornos.

La mayoría de las mezclas de alcoholes de cadena larga descritas en la bibliografía, son en forma de cera o sólidos de bajo punto de fusión. Sin embargo, en este procedimiento se han obtenido 3 diferentes mezclas resultando en una sólida y dos líquidas a temperatura ambiente. Esta característica hace que la mezcla de alcoholes de Jojoba sea fácilmente absorbida por la piel humana, al igual que en caso del aceite de Jojoba. A diferencia del aceite de Jojoba, estos alcoholes no requieren un portador o agente tensioactivo para facilitar la penetración transdérmica. Así por ejemplo la patente de US7435424, describe, que cuando se incluye un porcentaje de 5% a 10% de una composición que contiene producto derivado de aceite de Jojoba hidrolizado en formulación de productos cosméticos, repelente o productos pesticidas, aumenta la persistencia de dichos productos sobre la piel de animales o en el cabello. La utilización de alcoholes de Jojoba, no se limita a tratamiento tópico de infecciones subdérmicas; así por ejemplo la patente americana US5700453 describe su utilización junto con un gran número de compuestos en la formulación del lápiz labial, proporcionando menor sensación de sequedad y mayor durabilidad al mismo. Los alcoholes de Jojoba también se han empleado como excipiente en la patente US5750563 sobre el ácido kójico.

En esta invención, se ha descubierto que el uso de aceite de Jojoba como fuente de mezcla de alcoholes alifáticos ofrece numerosas ventajas frente al uso de otras materias primas, como son la cera de abejas o la caña de azúcar. Por ejemplo, existen factores asociados a la pureza de cera abeja o de caña de azúcar que son difíciles de controlar, y por lo tanto resulta difícil obtener una fuente fiable de que cumpla los requisitos para obtener un producto puro.

Además, los alcoholes obtenidos a partir de cera de abeja y de caña de azúcar son sólidos y requieren un portador o agente tensioactivo para facilitar la penetración transdérmica.

Mediante un diseño de experimentos se han obtenido las condiciones óptimas de operación para los procesos de esterificación y purificación que conducen a la obtención de alcoholes con mayor rendimiento y alto nivel de pureza. Estos parámetros operativos son: el sistema catalítico utilizado, su porcentaje, el alcohol utilizado en el proceso de transesterificación, el rango de la temperatura, el régimen de recristalización y el régimen de filtración de los sólidos.

Este procesos, después de la separación de los alcoholes alifáticos monoinsaturados de Jojoba, permite obtener como subproducto una mezcla de esteres monoalquílicos de los ácidos grasos de Jojoba que tienen muchas aplicaciones como biodiesel y como productos biodegradables (dependiendo del alcohol empleado en la transesterificación). Estos esteres monoalquílicos, se han establecido cierto número de especificaciones cuya lista, límites y métodos forman parte de la norma de EN 14214 (2003) aplicable actualmente en Europa.

Todos los productos obtenidos en este procesos fueron identificados de forma cualitativa y cuantitativa mediante combinación de técnicas tales como espectrometría de infrarrojo, resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C y Dept), espectrometría de masas y cromatografía de gases.

Modo de realización de la invención

La presente invención se hará más clara a partir de la consideración de los siguientes ejemplos que se exponen para ilustrar adicionalmente los principios de la invención y no pretenden, de ninguna manera, ser limitativos de su alcance.

Como materia de partida en esta invención se emplea el aceite de Jojoba con las propiedades que se recoge en la Tabla 1.

Tabla 1: propiedades y composición del aceite de Jojoba

Propiedades					
Viscosidad (mm ² /s)		26.6			
Índice de yodo (I ₂ /100g)		83.00			
Estabilidad a la oxidación (h)		41.30			
CFPP (°C)		10.00			
Acidez (mg/g)		0.36			
Humedad (%)		0.03			
Densidad (g/cm ³)		0.86			
Composición					
Ésteres	%	Acoholes	%	Ácidos	%
C34-36	0.2	C20:1	43.8	C18:1	11.2
C38	6.6	C22:1	44.9	C20:1	71.3
C40	30.2	C24:1	8.9	C22:1	13.6
C42	50.9				
C44	9.0				
C46-50	0.9				

En los ejemplos 1, 2, 3, 4 y 5, se muestran la influencia del sistema catalítico y del rendimiento del mismo empleado en la transesterificación de aceite de Jojoba. El alcohol empleado en este proceso es 1-butanol.

Ejemplo 1

En este ejemplo se muestra la influencia del sistema catalítico enzimático obtenido a partir de especie fúngica *Mucor miehi*, inmovilizada en resina de intercambio aniónico, con un diámetro medio de poro de 176 Å, una superficie específica de 60 m²/g y una actividad de 60 BIUS.

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 250 ml de capacidad, provisto de un sistema de refrigerante de reflujo. Se introduce en el reactor, el aceite y el alcohol en una relación molar 1:3, con una concentración inicial de catalizador enzimático del 5% en peso. La temperatura de reacción se mantiene en 70°C y la velocidad de agitación es de 700 r.p.m. Después de 10 horas de reacción, la conversión de aceite fue del 77%.

Ejemplo 2

En este ejemplo se muestra la influencia del sistema catalítico enzimático obtenido a partir de la especie fúngica *Candida antarctica*, inmovilizada en resina acrílica macroporosa, con un diámetro medio de poro de 180 Å, una superficie específica de 95 m²/g y una actividad de 7000 PLUS/g.

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 250 ml de capacidad, provisto de un sistema de refrigerante de reflujo. Se introduce en el reactor, el aceite y el alcohol en una relación molar 1:3, con una concentración de inicial de catalizador enzimático del 5% en peso. La temperatura de reacción se mantiene en 70°C y la velocidad de agitación en 700 r.p.m. Después de 10 horas de reacción la conversión del aceite fue del 81%.

Ejemplo 3

En este ejemplo se muestra la influencia del sistema catalítico enzimático obtenido a partir de especie fúngica *Candida Antarctica* inmovilizada en resina acrílica macroporosa con un diámetro medio de poro de 210Å, una superficie específica de 67 m²/g y una actividad de 7800 PLUS/g.

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 250 ml de capacidad, provisto de un sistema de refrigerante de reflujo. Se introducen en el reactor el aceite y el alcohol en una relación molar 1:3, siendo la concentración inicial de catalizador del 5% en peso. La temperatura de
5 reacción se mantuvo en 70°C y la velocidad de agitación en 700 r.p.m. Después de 10 horas de reacción la conversión del aceite fue del 72%.

Ejemplo 4

En este ejemplo se muestra la influencia del sistema catalítico heterogéneo
10 (K/(γ -Al₂O₃)).

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 250 ml de capacidad, provisto de un sistema de refrigerante de reflujo. Se introduce en el reactor, el aceite y el alcohol en una relación molar 1:3, con una concentración de inicial de catalizador del 5% en peso. La temperatura de
15 reacción se mantiene en 70°C y la velocidad de agitación en 700 r.p.m. Después de 10 horas de reacción la conversión del aceite fue del 82%.

Ejemplo 5

En este ejemplo se muestra la influencia del sistema catalítico homogéneo
20 (NaOCH₃).

La reacción se lleva a cabo en un reactor de mezcla completa de 250 ml de capacidad, provisto de un sistema de refrigerante de reflujo. Se introduce en el reactor, el aceite y el alcohol en una relación molar 1:3, con una concentración de inicial de catalizador del 1% en peso. La temperatura de
25 reacción se mantiene en 70°C y la velocidad de agitación en 700 r.p.m. Después de 10 horas de reacción la conversión del aceite fue del 84%.

Ejemplo 6

En este ejemplo se muestra la influencia de la temperatura de reacción. Se
30 repitió el ejemplo 2, con el mismo catalizador e idénticas condiciones de operación, salvo la temperatura de reacción, que se mantuvo en 78°C. Después de 10 horas de reacción, la conversión de aceite fue del 89%.

Ejemplo 7

En este ejemplo se muestra la influencia de la concentración inicial de catalizador. Se realiza la reacción con el mismo sistema catalítico y las mismas condiciones descritas en el ejemplo 6 salvo la concentración inicial de catalizador que se fijó en 7 % en peso. Después de 10 horas de reacción la conversión del aceite fue del 91%.

Ejemplo 8

En este ejemplo se muestra la influencia de la relación molar alcohol:aceite. Se realiza la reacción con el mismo catalizador y condiciones de reacción del ejemplo 7, salvo que la relación molar alcohol/aceite, que se fijó en 6. Después de 10 horas de reacción, la conversión de ácido fue del 93%.

Ejemplo 9

En un lecho de capacidad extensible, con un diámetro de 1,6 cm y una altura de 6 cm, provisto de una camisa para termostatar la operación, se introducen 4,5 g de enzima inmovilizada. A través del mismo se hace circular una mezcla de aceite y alcohol en una relación molar 1:3 a un caudal de 1ml/min. El catalizador enzimático empleado es el obtenido a partir de la especie fúngica *Candida antarctica*, inmovilizada en resina acrílica macroporosa, con un diámetro medio de poro de 180 Å, una superficie específica de 95 m²/g y una actividad de 7000 PLUS/g. La temperatura de reacción se mantuvo en 70°C. El tiempo de residencia medio fue de 1,3 horas y la conversión del ácido fue del 18%.

En los ejemplos 10, 11 y 12, como comparación, se muestra la influencia de la complejidad de la cadena del alcohol empleado como agente de transesterificación. El catalizador empleado es obtenido a partir de la especie fúngica *Candida Antarctica*, inmovilizada en una resina acrílica macroporosa, con un diámetro medio de poro de 180 Å, una superficie específica 95 m²/g. y una actividad de 7000 PLUG/g.

Ejemplo 10

La reacción se lleva a cabo en las mismas condiciones del ejemplo 8, salvo que el alcohol empleado en la transesterificación es metanol y la temperatura de reacción es de 60°C. Después de 10 horas de reacción, la conversión de
5 aceite fue del 95%.

Ejemplo 11

La reacción se lleva a cabo en las mismas condiciones del ejemplo 8, con salvo que el alcohol empleado en la transesterificación es etanol. Después de
10 10 horas de reacción, la conversión de aceite fue del 89 %.

Ejemplo 12

La reacción se lleva a cabo en las mismas condiciones del ejemplo 8, salvo que el alcohol empleado en la transesterificación es octanol. Después de 10
15 horas de reacción, la conversión de aceite fue del 84%.

En los ejemplos 13 y 14, se emplea el aceite de Jojoba en forma de dos fracciones sólidas y líquidas obtenidas mediante un proceso de criogenización controlado a temperaturas entre 6 y 10°C y tiempo de operación entre 1h y
20 36h. Dichas fracciones tienen diferentes composiciones y propiedades. En la Tabla 2 se recoge las propiedades de la fracción líquida y sólida.

Tabla 2: Propiedades de la fracción sólida y líquida

	Fracción líquida	Fracción sólida
Viscosidad (cSt)	24,6	27,9
Índice de Iodo ($I_2/100g$)	85	82
Estabilidad a la oxidación (h)	60,6	34,4
CFPP (°C)	8	10
Acidez (mg/g)	0,295	0,298
Humedad (%)	0,03	0,03
Densidad (g/cm^3)	0,8616	0,8620

Ejemplo 13

La reacción se lleva a cabo en las mismas condiciones del ejemplo 8, salvo
 5 que el aceite empleado en la transesterificación es una fracción líquida del
 aceite de Jojoba obtenida mediante un proceso criogénico controlado.
 Después de 10 horas de reacción, la conversión de aceite fue del 93%. A
 diferencia del ejemplo 8, las proporciones de los alcoholes obtenidos en este
 ejemplo son: $C_{18:1}$:0.8% , $C_{20:1}$:51.2% ; $C_{22:1}$:41.5% y $C_{24:1}$:6.3%.

10

Ejemplo 14

La reacción se lleva a cabo en las mismas condiciones del ejemplo 8, salvo
 que el aceite empleado en la transesterificación es una fracción sólida del
 aceite de Jojoba obtenida mediante un proceso criogénico controlado.
 15 Después de 10 horas de reacción, la conversión de aceite fue del 92.5%. A
 diferencia del ejemplo 8, las proporciones de los alcoholes obtenidos en este
 ejemplo son: C_{20} :31.4%; C_{22} :53.3% y C_{24} :15.3%.

Separación de alcoholes y esteres alquílicos de Jojoba de la mezcla
 20 transesterificada utilizando cromatografía flash en columna de gel de sílice.

Ejemplo 15

La separación de los productos de reacción de transesterificación se ha
 llevado a cabo por cromatografía flash en columna sobre gel de sílice (gel de

sílice 60, MERCK 230-400 mesh), utilizando como eluyente una mezcla de hexano/acetato de etilo en proporción 95:5. $R_f(\text{Alcoholes}) = 0.33$ y $R_f(\text{Esteres}) = 0.52$.

Los alcoholes y esterres alquílicos aislados se han identificado atendiendo a sus datos espectroscópicos y/o analíticos.

En la Tabla 3, se muestra los porcentajes de alcoholes y esterres alquílicos obtenidos usando diferentes alcoholes en el proceso de transesterificación del aceite de Jojoba

10

Tabla 3

Alcohol utilizado en la transesterificación	Porcentaje de alcoholes (% m/m)	Porcentaje de esterres (% m/m)
Metanol (ejemplo 10)	44.32%	44.9%
Etanol (ejemplo 11)	41.4%	44.0%
Butanol (ejemplo 8)	43.4%	49.9%
Octanol (ejemplo 12)	39.2%	52.2%

15

Fraccionamiento de la mezcla de alcoholes obtenida en el ejemplo 15 por Cristalización criogénica utilizando un sistema de hexano/Éter etílico en proporción 3:1.

Ejemplo 16

Se sometió la mezcla de alcoholes obtenida en el ejemplo 15, a fraccionamiento por cristalización. Se disolvieron 50 g de la mezcla, que contiene 4 alcoholes ($C_{18:1}$, $C_{20:1}$, $C_{22:1}$ y $C_{24:1}$), en 200 ml de éter etílico en caliente y se diluyó posteriormente con 800 ml de hexano. La mezcla se mantuvo a 30 °C y con agitación vigorosa durante 10 min. La precipitación fue provocada por el enfriamiento de la mezcla en un baño termostático, a -20 °C durante 24 horas. La solución se filtró utilizando un embudo Büchner. El sólido blanco se lavó con hexano previamente enfriado y se secó bajo presión reducida para dar lugar a 4.2 g del alcohol $C_{24:1}$. Las aguas madres

25

combinadas se concentraron y se sometieron a la segunda recrystalización. En la segunda recrystalización se obtienen 21.5 g de una mezcla de alcoholes; $C_{22:1}$ y $C_{24:1}$ en proporción 15:1. Las aguas madres resultantes se concentraron para dar lugar 22.3g de una mezcla enriquecida con los
5 alcoholes, $C_{18:1}$, $C_{20:1}$ y $C_{22:1}$ en proporción 0.2:15:2.

Separación de alcoholes y esteres de Jojoba, de la mezcla transesterificada con 1-butanol, por cristalización criogénica usando sistemas de disolventes alternativos en diferentes proporciones, sin pasar la mezcla por columna.

10

Diferentes disolventes fueron investigados durante la purificación de alcoholes alifáticos de aceite de Jojoba transesterificado con 1-butanol. El método de recrystalización seguido fue el descrito anteriormente. Ocho sistemas de diferentes disolventes fueron utilizados durante el proceso de
15 recrystalización de los alcoholes alifáticos. Estos sistemas están compuestos por disolventes puros o mezcla de los mismos: hexano puro; hexano/éter etílico; hexano/acetato de etilo; hexano/diclorometano; hexano/metanol; hexano/etanol; pentano puro y pentano/éter etílico.

20 Las cantidades de alcoholes obtenidas y sus rendimientos a partir de 100 g del producto en bruto para cada sistema de disolvente utilizado en la recrystalización se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

Sistema de disolventes	Proporción	Cantidad alcoholes (g)	Rendimiento (%) y la proporción de cada alcohol
Hexano/ Éter etílico	1:1	36.2	88% (C ₁₈ :0.5; C ₂₀ :42.2; C ₂₂ :48.2; C ₂₄ :9.1)
Hexano/ Éter etílico	2:1	39.6	91% (C ₁₈ :0.6; C ₂₀ :43.2; C ₂₂ :46.9; C ₂₄ :9.3)
Hexano/ Éter etílico	3:1	48.9	98% (C ₁₈ :0.8; C ₂₀ :37.3; C ₂₂ :52.0; C ₂₄ :9.9)
Hexano puro		41.8	93% (C ₁₈ :0.8; C ₂₀ :37.1; C ₂₂ :51.0; C ₂₄ :11.0)
Hexano/ Acetato de etilo	3:1	27.8	84% (C ₁₈ :0.1; C ₂₀ :30.9; C ₂₂ :56.0; C ₂₄ :13.0)
Hexano/ diclorometano	3:1	28.6	81% (C ₁₈ :0.2; C ₂₀ :43.8; C ₂₂ :44.0; C ₂₄ :12.0)
Hexano/ Etanol	3:1	31.2	83% (C ₁₈ :0.0; C ₂₀ :39.0; C ₂₂ :48.0; C ₂₄ :13.0)
Hexano/ metanol	3:1	29.8	84% (C ₁₈ :0.0; C ₂₀ :40.0; C ₂₂ :48.0; C ₂₄ :12.0)
Pentano/ éter etílico	3:1	47.3	97% (C ₁₈ :0.6; C ₂₀ :37.7; C ₂₂ :51.2; C ₂₄ :10.5)
Pentano puro		43.1	96% (C ₁₈ :0.6; C ₂₀ :37.4; C ₂₂ :51.0; C ₂₄ :11.0)
Éter etílico puro		35.7	96% (C ₁₈ :0.0; C ₂₀ :36.0; C ₂₂ :50.0; C ₂₄ :14.0)

En resumen

El uso de la mezcla de disolventes constituida por hexano:éter etílico en proporción 3:1 proporcionó el mejor resultado, obteniéndose el 97% de alcoholes existentes en el aceite de Jojoba tras las 2 etapas de recristalizaciones.

Separación de alcoholes y esteres de Jojoba, de la mezcla transesterificada con metanol, por cristalización criogénica usando un sistema hexano:éter etílico en proporción 3:1

Ejemplo17

Se disolvieron 100 g del producto de la transesterificación resultante en el ejemplo 10, que contiene alcoholes y ésteres, en 200 ml de éter etílico en caliente y se diluyó posteriormente con 800 ml de hexano. La mezcla se mantuvo a 30 °C y con agitación vigorosa durante 10 min. Se deja en reposo a -20 °C durante 24 h. Aparece un sólido que se filtra usando un embudo

Büchner y se lava con hexano, ambos previamente enfriados. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar lugar a 21g de una mezcla sólida de alcoholes $C_{22:1}$ y $C_{24:1}$ en proporción 5.8:1. a temperatura ambiente. Las aguas madres se concentraron y se sometieron a dos recrystalizaciones
 5 siguiendo el mismo procedimiento. En la segunda recrystalización se obtienen 13.3 g de una mezcla de alcoholes $C_{20:1}$, $C_{22:1}$ y $C_{24:1}$ en proporción 5.4:10:1, mientras que el tercera se obtienen 7.5 g de una mezcla enriquecida con alcoholes $C_{18:1}$, $C_{20:1}$ y $C_{22:1}$ en proporción 0.1:5.2:2. Las aguas madres resultantes de la tercera cristalización se concentraron para dar lugar a una
 10 mezcla de esteres metílicos de ácidos grasos de Jojoba que se pueden utilizar como carburante diesel.

Separación de alcoholes y esteres de Jojoba, de la mezcla transesterificada con etanol, por cristalización criogénica usando un sistema hexano:éter etílico en proporción 3:1
 15

Ejemplo 18

Se disolvieron 100 g del producto de la transesterificación resultante en el ejemplo 11, que contiene alcoholes y ésteres, en 200 ml de éter etílico en
 20 caliente y se diluyó posteriormente con 800 ml de hexano empleando un vaso de precipitados. La mezcla se mantuvo a 30 °C y con agitación vigorosa durante 10 min. Se deja en reposo a -20 °C durante 24 h. Aparece un sólido que se filtra usando un embudo Büchner y se lava con hexano, ambos previamente enfriados. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar
 25 lugar a 18.5 gr. de una fracción de alcoholes, sólida a temperatura ambiente. Las aguas madres se concentraron, y de la misma manera se vuelve a recrystalizar 2 veces más. En la segunda recrystalización se obtienen 8.5 g de una mezcla de alcoholes $C_{20:1}$, $C_{22:1}$ y $C_{24:1}$, mientras que el tercera se obtienen 3.6 g de una mezcla enriquecida con solo 2 alcoholes $C_{20:1}$ y $C_{22:1}$.
 30 Las aguas madres resultantes de la tercera cristalización se concentraron para dar lugar a una mezcla ésteres etílicos de ácidos grasos de Jojoba que se pueden utiliza carburante diesel.

Separación de alcoholes y esteres de Jojoba, de la mezcla transesterificada con octanol, por cristalización criogénica usando un sistema hexano:éter etílico en proporción 3:1

5 Ejemplo 19

Se disolvieron 100 g del producto de la transesterificación resultante en el ejemplo 12, que contiene alcoholes y ésteres, en 200 ml de éter etílico en caliente y se diluyó posteriormente con 800 ml de hexano empleando un vaso de precipitados. La mezcla se mantuvo a 30 °C y con agitación vigorosa
 10 durante 10 min. Se deja en reposo a -20 °C durante 24 h. Aparece un sólido que se filtra usando un embudo Büchner y se lava con hexano, ambos previamente enfriados. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar lugar a 18.2 g de una fracción de alcoholes, sólida a temperatura ambiente. Las aguas madres se concentraron, y de la misma manera se vuelve a
 15 recristalizar 2 veces más. En la segunda recristalización se obtienen 8.3 g de una mezcla de alcoholes C_{20:1}, C_{22:1} y C_{24:1}, mientras que en la tercera se obtienen 4.9 g de una mezcla enriquecida con solo 2 alcoholes, C_{20:1} y C_{22:1} en proporción. Las aguas madres resultantes de la tercera recristalización se concentraron para dar lugar a una mezcla esteres alquílicos de ácidos grasos
 20 de Jojoba que se pueden utilizar como carburante diesel.

En resumen

El mejor resultado de la cristalización se ha obtenido, utilizando el producto resultante de la transesterificación con 1-butanol, obteniéndose más del 97%
 25 de alcoholes con una pureza del 99%.

El contenido de alcoholes alifáticos obtenidos varia mucho dependiendo del sistema de disolventes utilizado en la cristalización, de la concentración del soluto y también del alcohol utilizado en la transesterificación.

30 En general, el contenido de alcoholes alifáticos obtenidos durante la recristalización resulta mayor cuando se emplea el alcohol butílico como reactivo en la transesterificación, debido a que los esteres butílicos tienen un

punto de fusión menor comparando con los esteres metílicos o etílicos. En el caso de la transesterificación con octanol, la conversión del aceite es bajo comparado con la transesterificación con los otros alcoholes, por lo que se obtiene con menor rendimiento las mezclas de alcoholes.

5

Descripción de las figuras

La figura 1 muestra un diagrama para la obtención integrado de alcoholes de Jojoba y esteres monoalquílicos a partir de aceite de Jojoba.

En la figura 2 se muestra el proceso de cristalización.

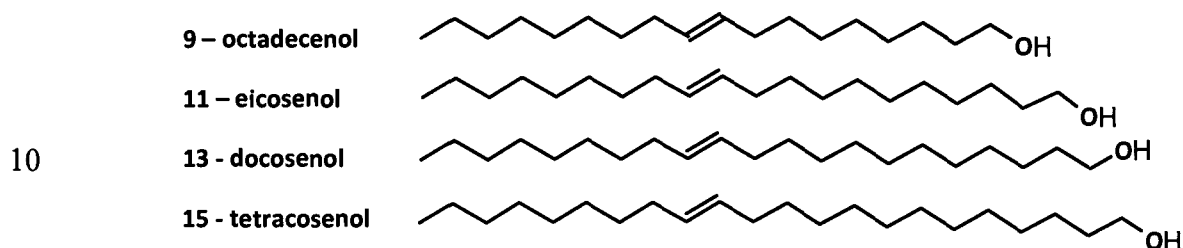
- 10 La figura 3 muestra el cromatograma de gases: a) aceite de Jojoba; b) producto de la reacción de transesterificación y c) alcoholes aislados de Jojoba.

La figura 4 muestra la estructura y los datos espectrales (^1H -RMN) de la mezcla de alcoholes de Jojoba.

- 15 En la figura 5 se muestra el espectro de infrarrojo de la mezcla de alcoholes.

REIVINDICACIONES

1. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes monoinsaturados de Jojoba de entre 18 y 24 átomos de carbono de fórmula general (II) y ésteres monoalquílicos a partir de aceite de jojoba que comprende:



(II)

- a) Transesterificación catalítica de aceite de jojoba con alcoholes de bajo y medio peso molecular para obtener una mezcla de los correspondientes alcoholes alifáticos primarios monoinsaturados y ésteres de ácidos grasos de jojoba.
- b) Separación y fraccionamiento de los alcoholes de los ésteres mediante cromatografía flash en columna y el posterior fraccionamiento de la mezcla de alcoholes obtenida mediante cristalización criogénica o bien, mediante la separación directa de los alcoholes y ésteres resultante de la reacción de transesterificación por cristalización fraccionada. En ambos casos se utiliza un sistema de disolventes apolar/polar para la recrystalización de los alcoholes.
2. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes, según reivindicación 1, donde el aceite de jojoba está en forma de fracción sólida o líquida obtenidas mediante un proceso de criogenización controlada.

3. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes, según reivindicación 1, donde el catalizador es un catalizador básico homogéneo o heterogéneo.
- 5 4. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes, según reivindicación 1, donde el catalizador es una enzima.
- 10 5. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes, según reivindicación 4, donde el catalizador enzimático tiene un diámetro de poro entre 50 y 400 Å, y una superficie específica entre 10 y 150 m²/gr.
- 15 6. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes, según reivindicación 1, donde la reacción de transesterificación se realiza a una temperatura entre 60 y 95°C, con una concentración de catalizador entre 0,5 y 7% y un tiempo de reacción que varía entre 3 y 10 horas.
- 20 7. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes, según reivindicación 1, caracterizado porque la reacción de transesterificación se realiza a una relación molar aceite:alcohol entre 1:1 y 1:6.
- 25 8. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes, según reivindicación 1, donde el alcohol empleado en la transesterificación es metanol, etanol, butanol u octanol.
- 30 9. Proceso integrado para la producción de diferentes mezclas enriquecidas en diferentes alcoholes, según reivindicación 1, donde el sistema de disolventes utilizado para la separación por cristalización se elige entre el grupo formado por: acetona, éter etílico, cloroformo, hexano, heptano, pentano, acetato de etilo, metanol, etanol o la mezcla de los mismos.

10. Mezclas enriquecidas en diferentes proporciones de alcoholes y diferentes estados a temperatura ambiente obtenibles mediante el procedimiento reivindicado

5

11. Mezclas enriquecidas en diferentes proporciones de alcoholes y en diferentes estados, a temperatura ambiente, según reivindicación 10, que comprenden:

- 10
- a) Primera fracción sólida que contiene 15-tetracosenol
 - b) Segunda fracción líquida que contiene 13-docosenol y 15-tetracosenol, siendo 13-docosenol el mayoritario.
 - c) Tercera fracción líquida que contiene 9-octadecenol, 11-eicosenol y 13-docosenol, siendo 11-eicosenol el mayoritario

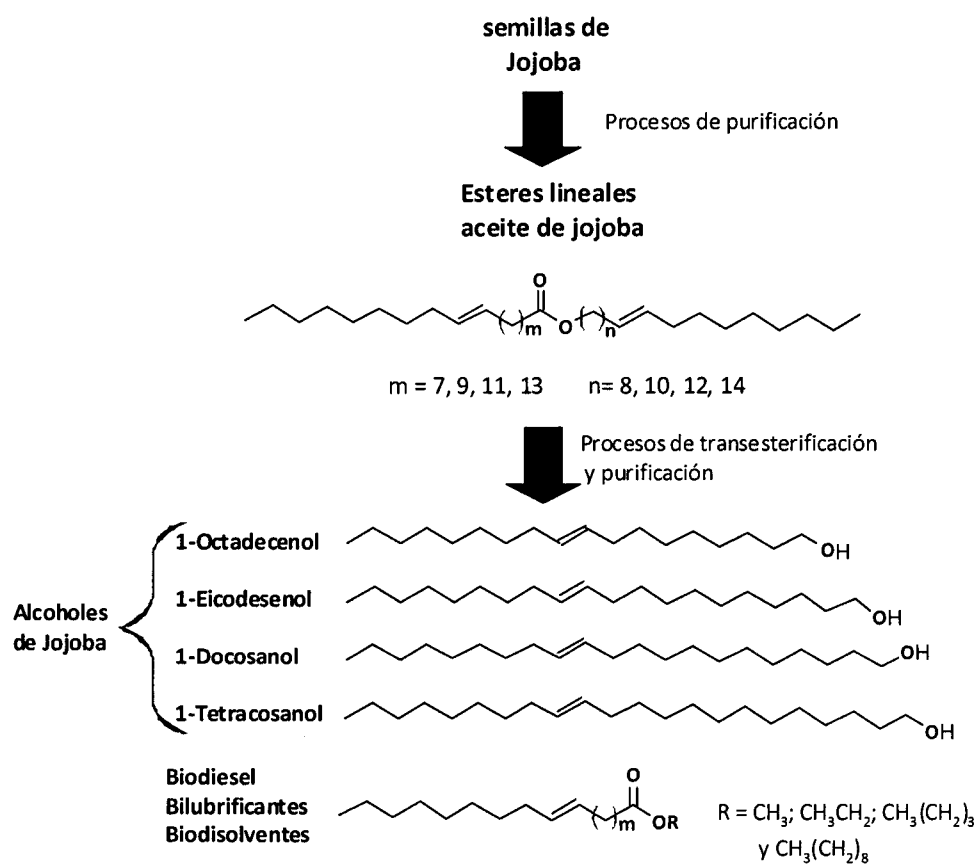
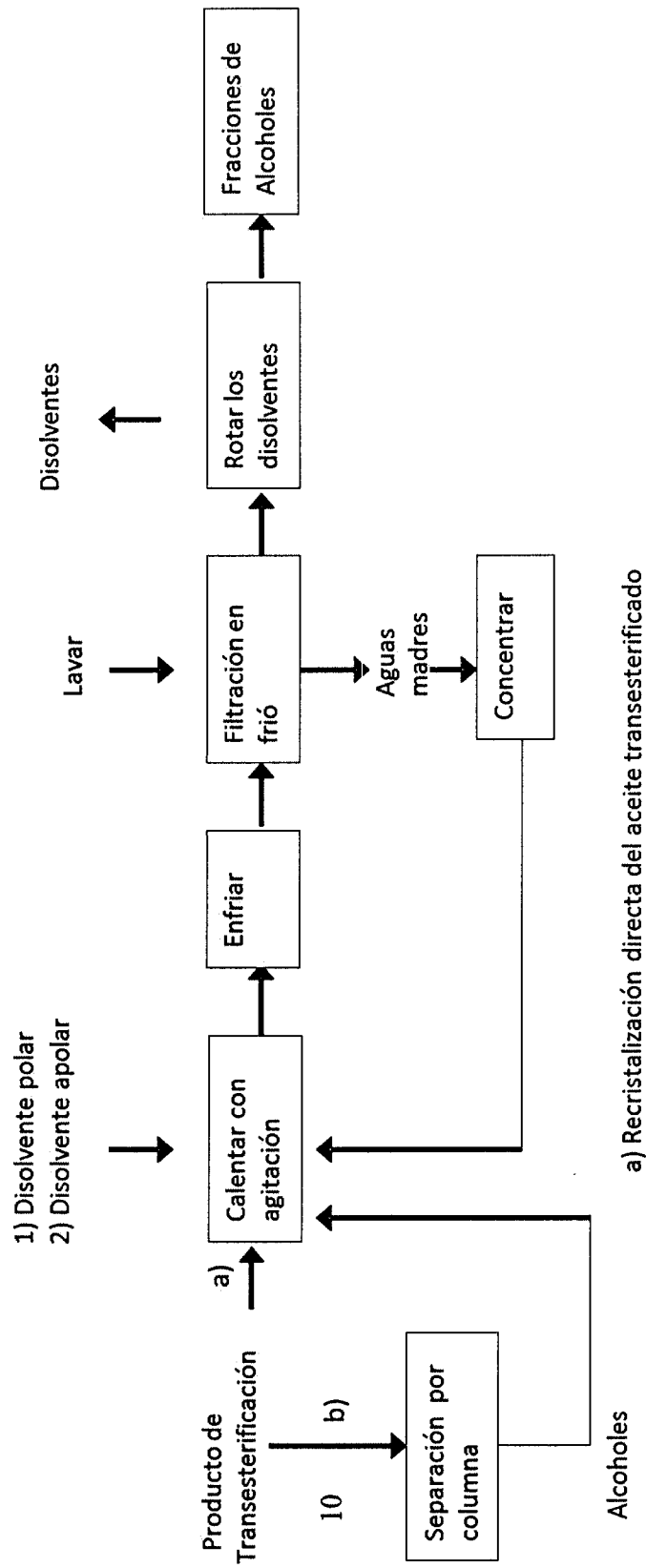


Figura 1



a) Recristalización directa del aceite transesterificado

b) Recristalización fraccionada de alcoholes después de la separación por columna.

Figura 2

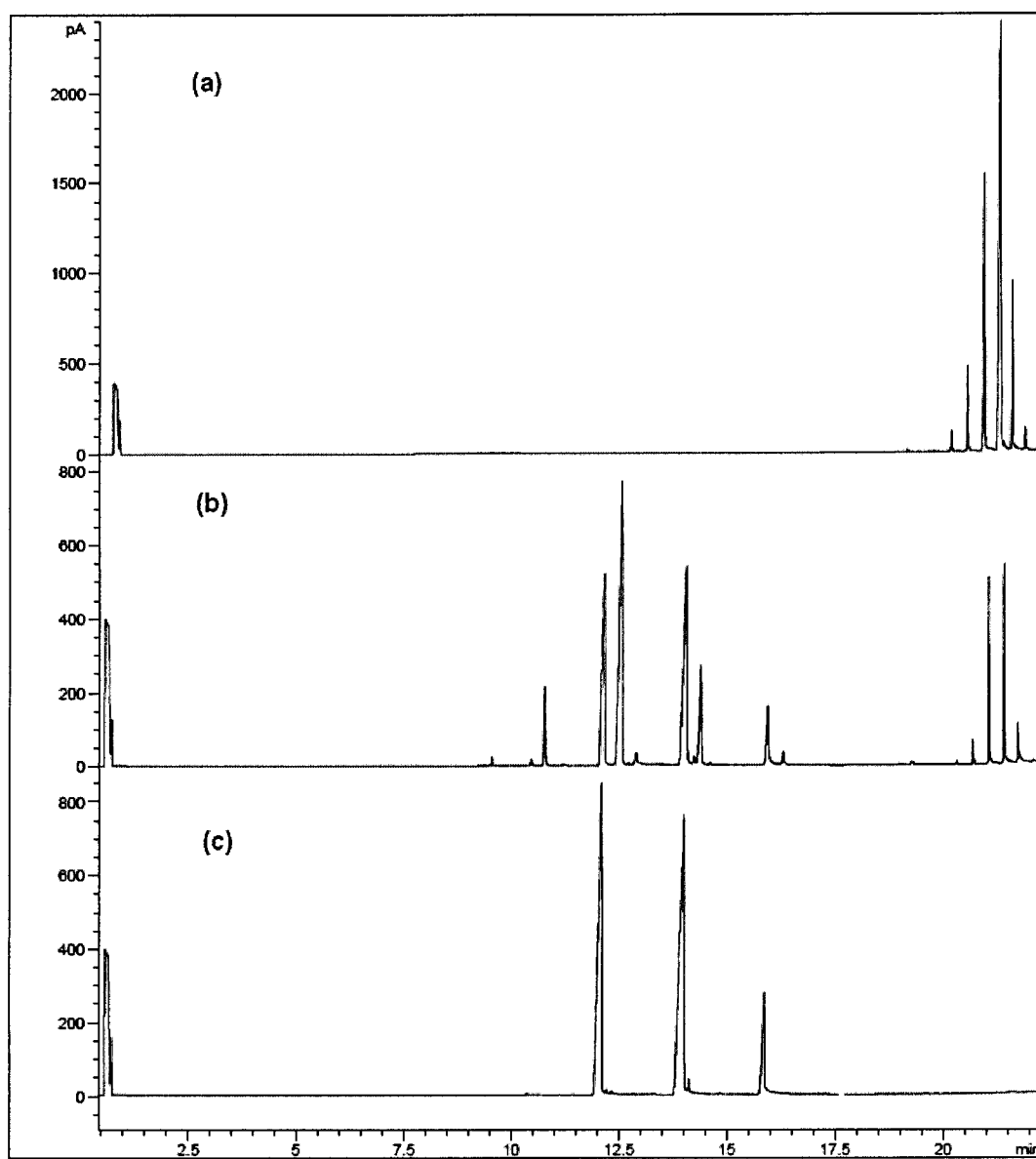


Figura 3

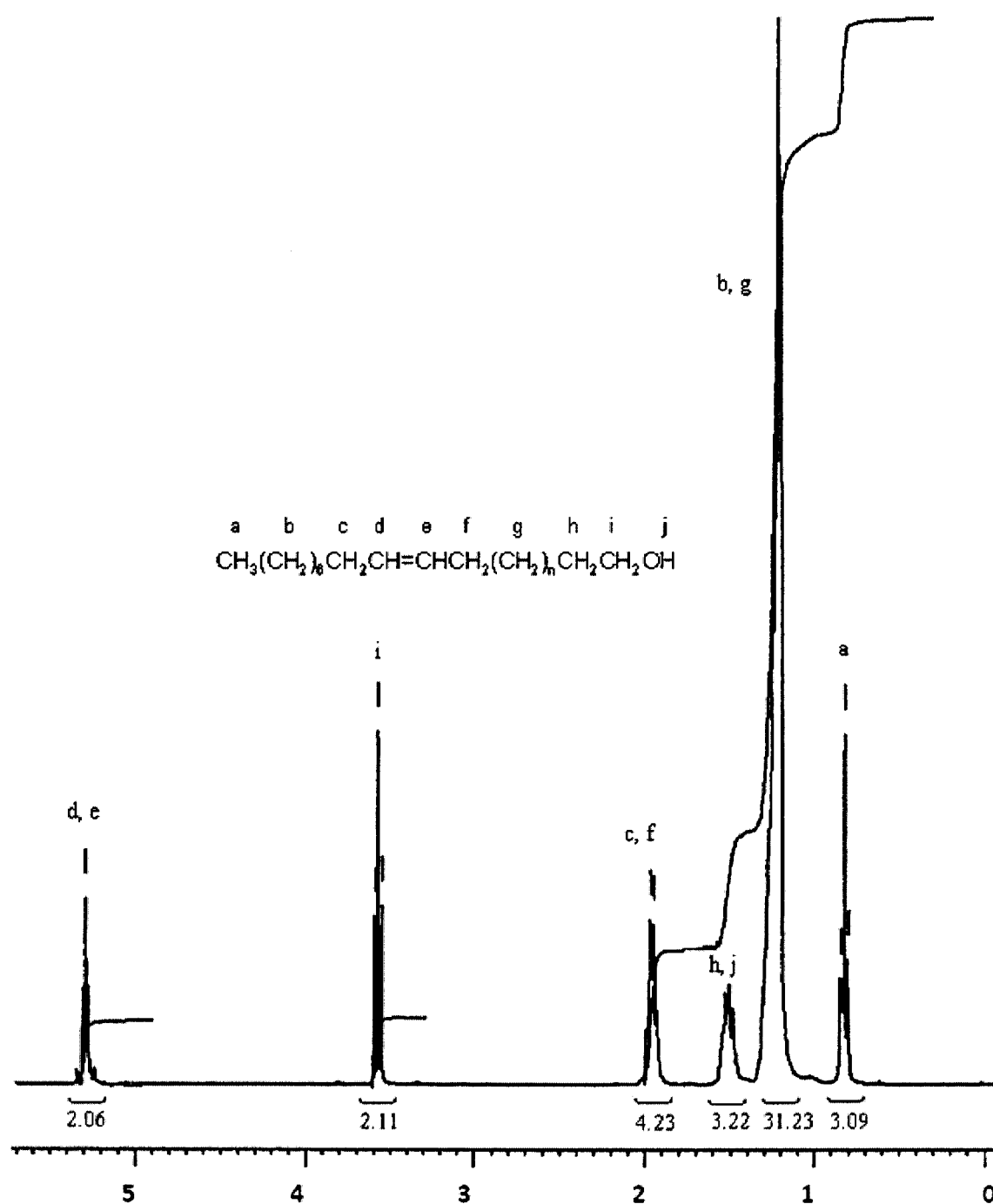


Figura 4

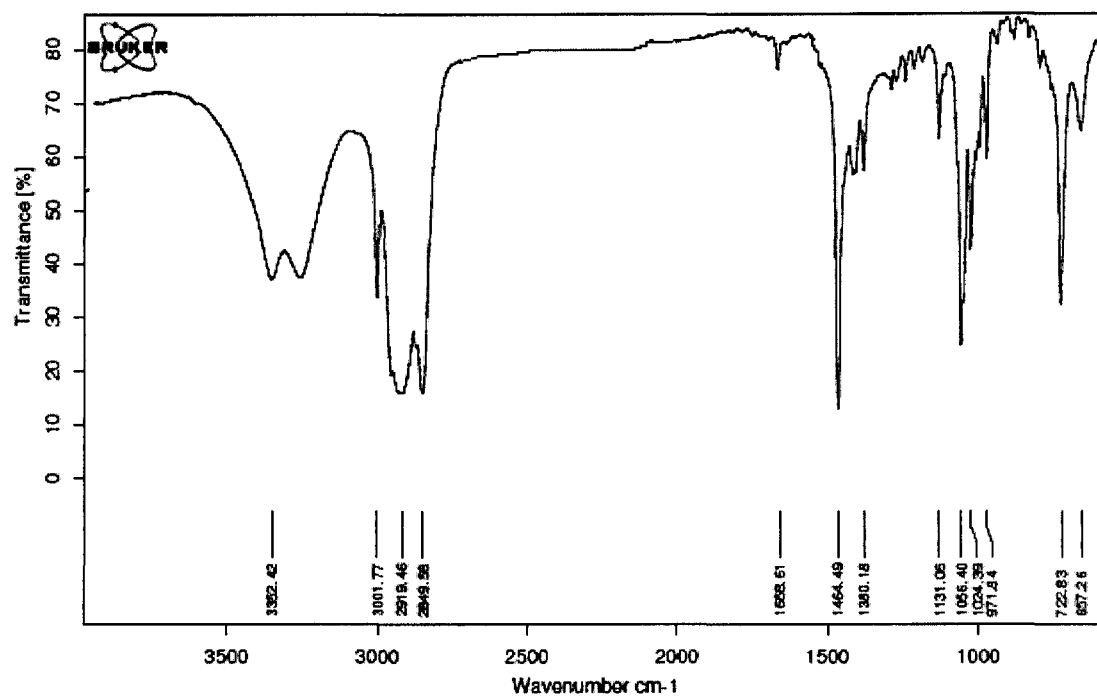


Figura 5



②① N.º solicitud: 201300261

②② Fecha de presentación de la solicitud: 15.03.2013

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	CANOIRA, L. et al. "Biodiesel from Jojoba oil-wax: Transesterification with methanol and properties as a fuel". Biomass and Bioenergy, 2006, Vol. 30, N. 1, páginas 76–81. Ver Resumen, Apartado 2, Tabla 1.	1-3,6-11
A	US 5968530 (ARQUETTE DEMETRIOS JAMES G) 19.10.1999, columna 2, línea 14 – columna 4, línea 35; columna 8, líneas 49-65; ejemplo 1.	1-11
A	US 6703052 B2 (VERBISCAR, A. J.) 09.03.2004, columna 4, líneas 14-67; columna 5, líneas 43-64.	1-11
A	BOUAID, A. et al. "Optimization of Biodiesel Production from Jojoba Oil". Process Safety and Environmental Protection, 2007, Vol. 85, N. 5, páginas 378-382. Ver Resumen, página 379, Procedure.	1-11
A	WO 03003833 A1 (INT FLORA TECHNOLOGIES LTD) 16.01.2003, página 8, línea 9 – página 11, líneas 12.	1-11

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
25.09.2013

Examinador
N. Martín Laso

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07C33/025 (2006.01)**C07C69/52** (2006.01)**C07C67/03** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07C

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, XPESP, CAS.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 25.09.2013

Declaración**Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)**

Reivindicaciones 4,5

SI

Reivindicaciones 1-3, 6-11

NO**Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)**

Reivindicaciones 4,5

SI

Reivindicaciones 1-3, 6-11

NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	CANOIRA, L. et al. "Biodiesel from Jojoba oil-wax: Transesterification with methanol and properties as a fuel". Biomass and Bioenergy, 2006, Vol. 30, N. 1, páginas 76–81.	2006

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud se refiere un procedimiento para la preparación de mezclas enriquecidas en alcoholes grasos (octadecenol, eicosenol, docosenol y tetracosenol) y ésteres monoalquílicos, mediante reacción de transesterificación del aceite de jojoba con alcoholes de bajo peso molecular.

El documento D01 divulga un procedimiento de transesterificación de aceite de jojoba con metanol en el que se obtienen una mezcla de alcoholes grasos (cis-9-octadecen-1-ol, cis-11-eicosen-1-ol, cis-13-docosen-1-ol, trans-13-docosen-1-ol y 15-tetracosen-1-ol) junto a ésteres metílicos de distintos ácidos grasos presentes en el aceite. La reacción de transesterificación puede realizarse mediante catálisis ácida en presencia de cloruro de acetilo o bien mediante catálisis básica utilizando metóxido sódico como catalizador. La reacción procede calentando la mezcla del aceite de jojoba con el metanol en presencia del catalizador a 65°C durante 4 horas. La relación molar del aceite-metanol es de 1-4 en el caso de la catálisis básica. La separación de los alcoholes de la mezcla de reacción se realiza mediante enfriamiento de la mezcla a -18°C, filtración de la parte solidificada y calentamiento de la mezcla restante hasta temperatura ambiente, con lo que se obtiene un aceite formado por varios alcoholes y una parte sólida enriquecida en los alcoholes eicosenol y docosenol (Resumen, Apartado 2, tabla 1).

La invención definida en las reivindicaciones 1-3 y 6-11 de la solicitud carecen de novedad al encontrarse divulgada en el documento D01 (Art. 6.1. LP 11/1986).

Sin embargo, no se ha encontrado en el estado de la técnica documentos que divulguen o dirijan al experto en la materia hacia un procedimiento de transesterificación de aceite de jojoba para la obtención de mezclas de alcoholes grasos como los recogidos en la reivindicación 1 de la solicitud en los que la reacción se realice en presencia de un sistema catalizador enzimático, lo que conlleva una mejora en la separación de los productos resultantes de la reacción.

Por lo tanto, la invención recogida en las reivindicaciones 4 y 5 de la solicitud es nueva y posee actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).

CAPÍTULOS DE LIBRO

- J. Aracil, M. Martínez, M. Arriaga, A. Bouaid, R. Oliveros, **M. Serrano**, M. Sánchez, N. El-Boulifi, E. Peña. “Pilot Plant of Biodiesel production using UFO (Used Frying Oil) as raw material” en *Biodiesel: Blends, Properties and Applications*, J. M Marchetti, Z. Fang. Nova Science Publishers, 2011. ISBN: 978-1-61324-660-3.
- E. Peña, **M. Serrano**, M. Sánchez, M. Martínez, J. Aracil. “Procesos Químicos: Producción de Biodiesel” en *Tecnologías para el uso y transformación de biomasa energética*. Ed. Paraninfo, 2015. ISBN 978-8-48476-674-2

